

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

**LIANA ROSA**

**ESTUDO DA BIOLOGIA REPRODUTIVA NA FASE JUVENIL DA  
TARTARUGA-VERDE (*Chelonia mydas*) NO LITORAL DO ESTADO DO  
PARANÁ.**

**PONTAL DO PARANÁ**

**2009**

**LIANA ROSA**

**ESTUDO DA BIOLOGIA REPRODUTIVA NA FASE JUVENIL DA  
TARTARUGA-VERDE (*Chelonia mydas*) NO LITORAL DO ESTADO DO  
PARANÁ.**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre ao curso de pós-graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos do Centro de Estudos do Mar da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Emygdio L. de A. Monteiro Filho.

**PONTAL DO PARANÁ**


**2009**

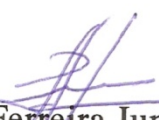
**“ESTUDO DA BIOLOGIA REPRODUTIVA NA FASE JUVENIL  
DA TARTARUGA-VERDE(CHELONIA MYDAS) NO LITORAL  
DO ESTADO DO PARANÁ.”**


**POR**

**LIANA ROSA**

Dissertação nº 025 aprovada como requisito parcial do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

  
Emygdio Leite de Araujo Monteiro Filho (UFPR)  
Orientador e Presidente

  
Paulo Dias Ferreira Junior (UVV)  
Membro Examinador

  
Luís Fernando Fávaro (UFPR)  
Membro Examinador

Pontal do Paraná, 03 de Março de 2009.



## **CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SISTEMAS COSTEIROS E OCEÂNICOS**

**Centro de Estudos do Mar - Setor Ciências da Terra - UFPR**

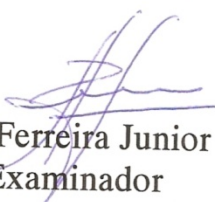
Avn. Beira-mar, s/nº - Pontal do Sul - Pontal do Paraná - Paraná - Brasil  
Tel. (41)3455-3620 - Fax (41)3455-3623 - [www.cem.ufpr.br/pgsisco](http://www.cem.ufpr.br/pgsisco) - E-mail: [pgsisco@ufpr.br](mailto:pgsisco@ufpr.br)

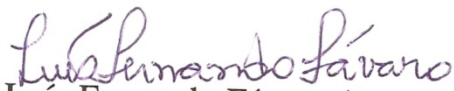
### **TERMO DE APROVAÇÃO**

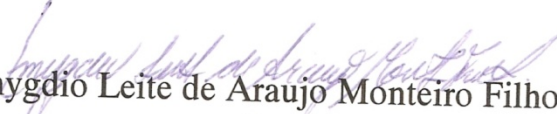
**Liana Rosa**

**“ESTUDO DA BIOLOGIA REPRODUTIVA NA FASE JUVENIL DA  
TARTARUGA-VERDE(CHELONIA MYDAS) NO LITORAL DO  
ESTADO DO PARANÁ.”.**

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de  
Mestre em Sistemas Costeiros e Oceânicos, da Universidade Federal do  
Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

  
Paulo Dias Ferreira Junior (UVV)  
Examinador

  
Luís Fernando Fávaro (UFPR)  
Examinador

  
Emygdio Leite de Araujo Monteiro Filho (UFPR)  
Presidente

Pontal do Paraná, 03 de Março de 2009.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	iii
Prólogo.....	1
<b>Capítulo 1: Ontogenia gonadal e Análise de proporção sexual de tartarugas-verdes juvenis no Litoral do Estado do Paraná.</b>	
RESUMO.....	3
ABSTRACT.....	4
1. INTRODUÇÃO.....	5
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	9
2.1. Área de Estudo.....	9
2.2. Procedimentos.....	12
3. RESULTADOS.....	15
4. DISCUSSÃO.....	24
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29
<b>Capítulo 2: Morfometria de tartarugas-verdes no Litoral do Estado do Paraná: testando o potencial dimorfismo.</b>	
RESUMO.....	40
ABSTRACT.....	41
1. INTRODUÇÃO.....	42
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	44
2.1. Área de Estudo.....	44
2.2. Procedimentos.....	45
3. RESULTADOS.....	48
4. DISCUSSÃO.....	56
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo 1: Ontogenia gonadal e Análise de proporção sexual de tartarugas-verdes juvenis no Litoral do Estado do Paraná.

FIGURA 1	- Mapa do Litoral do Estado do Paraná com área de ocorrência de <i>Chelonia mydas</i> em verde. (Créditos: Laboratório de Oceanografia Geológica – CEM/UFPR).....	11
FIGURA 2	- Distribuição em classes de comprimento curvilíneo de carapaça de 127 indivíduos de <i>Chelonia mydas</i> coletados no litoral do Estado do Paraná de abril de 2004 a novembro de 2008.....	15
FIGURA 3	- Categorias de textura para <i>Chelonia mydas</i> juvenis coletadas no Litoral do Estado do Paraná entre 2004 e 2008.....	17
FIGURA 4	- Categorias de aderência para tartarugas-verdes juvenis coletadas no Litoral do Estado do Paraná entre 2004 e 2008.....	19
FIGURA 4	- Cavidade abdominal de tartarugas-verdes juvenis coletadas no Estado do Paraná com ducto paramesonefrico evidenciado.....	19
FIGURA 6	- Correlação entre as medidas de Comprimento Curvilíneo de carapaça (CCC) e Comprimento linear de gônada (CLG) de 98 indivíduos de <i>Chelonia mydas</i> coletados no litoral paranaense que apresentaram tecido gonadal fixado adequado para o estudo.....	20
FIGURA 7	- Corte histológico de testículo de tartaruga-verde juvenil apresentando túbulos seminíferos corado com H/E.....	21
FIGURA 8	- Detalhe de túbulos seminíferos em corte histológico de testículo de tartaruga-verde juvenil corado com H/E.....	21
FIGURA 9	- Corte histológico de gônada feminina de tartaruga-verde juvenil com ovócitos homogêneos; corado com H/E.....	22
FIGURA 10	- Corte histológico de gônada feminina de tartaruga-verde juvenil com presença de ovócitos com vesículas no citoplasma; corado com H/E.....	22
FIGURA 11	- Relação entre medida de comprimento curvilíneo de carapaça em centímetros e estágio de desenvolvimento gonadal para a amostra de 21 fêmeas de <i>Chelonia mydas</i> coletadas no Litoral do Paraná.....	23

## **Capítulo 2: Morfometria de tartarugas-verdes no Litoral do Estado do Paraná.**

FIGURA 1	- Medidas de comprimento (1) e largura (2) das unhas das nadadeiras anteriores de tartarugas-verdes juvenis coletadas no litoral paranaense.....	46
FIGURA 2	- Medidas caudais coletadas de tartarugas-verdes sendo (1) o comprimento total da cauda a partir do plastrão e (2) o comprimento da cauda a partir da cloaca.....	47
FIGURA 3	- Vértex caudais de tartarugas-verdes juvenis coletadas no litoral paranaense, sendo as medidas de comprimento (1) e largura (2) obtidas das três primeiras vértebras (sacrais).....	47

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 1: Ontogenia gonadal e Análise de proporção sexual de tartarugas-verdes juvenis no Litoral do Estado do Paraná.

TABELA 1	- Número de Machos, fêmeas e proporção sexual de <i>Chelonia mydas</i> coletadas no Estado do Paraná, por classe de tamanho curvilíneo de carapaça.....	16
TABELA 2	- Número de Machos, fêmeas e proporção sexual de <i>Chelonia mydas</i> coletadas no Estado do Paraná, por ano.....	16
TABELA 3	- Número de Machos, Fêmeas e proporção sexual de <i>Chelonia mydas</i> coletadas no Estado do Paraná, por estações do ano.....	17
TABELA 4	- Categorias de textura gonadal em machos e fêmeas de 127 indivíduos de <i>Chelonia mydas</i> coletadas no Estado do Paraná.....	17
TABELA 5	- Número de machos e fêmeas de <i>Chelonia mydas</i> coletadas no Estado do Paraná, por categorias de textura gonadal e aderência separadas por classe de tamanho curvilíneo de carapaça.....	18
TABELA 6	- Dados de 21 fêmeas de <i>Chelonia mydas</i> coletadas no litoral paranaense contendo: frequência de ocorrência da fase na amostra, média do Comprimento curvilíneo de carapaça (CCC) em centímetros, descrição do estágio de desenvolvimento proposto e classificação referente á fase de desenvolvimento...	23

### Capítulo 2: Morfometria de tartarugas-verdes no Litoral do Estado do Paraná: testando o potencial dimorfismo.

TABELA 1	- Testes de significância (valores de t e respectivo p valor) da diferença entre sexos para médias de Comprimento Curvilíneo de Carapaça (CCC) e a razão entre o Comprimento e a Largura em três classes de tamanho propostas para <i>Chelonia mydas</i> coletadas no litoral paranaense (* = diferença significativa).....	49
TABELA 2	- Testes de significância (valores de t e respectivo p valor) da diferença entre sexos para amostras de comprimento, largura e razão do comprimento pela largura de estruturas externa, córnea e óssea das nadadeiras de <i>Chelonia mydas</i> coletadas no litoral paranaense (* = diferença significativa).....	50
TABELA 3	- Testes de significância (valores de t e respectivo p valor) da diferença entre sexos em três classes de tamanho distintas para amostras de comprimentos externo, córneo e ósseo das nadadeiras de tartarugas-verdes coletadas no litoral paranaense.....	51
TABELA 4	- Testes de significância (valores de t e respectivo p valor) da diferença entre sexos em três classes de tamanho distintas para amostras de largura externa, córnea e óssea das nadadeiras de tartarugas-verdes coletadas no litoral paranaense (* = diferença significativa).....	51



TABELA 5	- Testes de significância (valores de t e respectivo p valor) da diferença entre sexos em três classes de tamanho distintas para amostras da razão do comprimento pela largura (C/L) externa, córnea e óssea das nadadeiras de tartarugas-verdes coletadas no litoral paranaense (* = diferença significativa).....	52
TABELA 6	- Testes de significância (valores de t e respectivo p valor) da diferença entre sexos para medidas do comprimento total (CT), da cloaca ao final (CC) e a razão do comprimento total pelo cloacal (CT/CC) das caudas de tartarugas-verdes coletadas no litoral paranaense.....	52
TABELA 7	- Testes de significância (valores de t e respectivo p valor) da diferença entre sexos em três classes de tamanho distintas para médias das medidas do comprimento total (CT), da cloaca ao final (CC) e a razão do comprimento total pelo cloacal (CT/CC) das caudas de tartarugas-verdes coletadas no litoral paranaense (* = diferença significativa).....	53
TABELA 8	- Testes de significância (valores de t e respectivo p valor) da diferença entre sexos para medidas do comprimento, largura e razão do comprimento pela largura das três primeiras vértebras das caudas de tartarugas-verdes coletadas no litoral paranaense.....	54
TABELA 9	- Testes de significância (valores de t e respectivo p valor) da diferença entre sexos para medidas do comprimento, largura e razão do comprimento pela largura em duas classes de tamanho da primeira vértebra caudal de tartarugas-verdes coletadas no litoral paranaense (* = diferença significativa).....	55
TABELA 10	- Testes de significância (valores de t e respectivo p valor) da diferença entre sexos para medidas do comprimento, largura e razão do comprimento pela largura em duas classes de tamanho da segunda vértebra caudal de tartarugas-verdes coletadas no litoral paranaense.....	55
TABELA 11	- Testes de significância (valores de t e respectivo p valor) da diferença entre sexos para medidas do comprimento, largura e razão do comprimento pela largura em duas classes de tamanho da terceira vértebra caudal de tartarugas-verdes coletadas no litoral paranaense.....	56

## Prólogo

As tartarugas marinhas são animais cosmopolitas que habitam oceanos tropicais e subtropicais em todo o mundo. (SANCHES, 1999). Atualmente são conhecidas sete espécies de ocorrência global sendo que cinco destas estão presentes ao longo da costa brasileira, sendo elas: *Caretta caretta*, *Chelonia mydas*, *Dermochelys coriacea*, *Eretmochelys imbricata* e *Lepidochelys olivacea*. No país, ocorrem em toda extensão do litoral (SANCHES e BELLINI, 1999), inclusive no Estado do Paraná (D'AMATO, 1991; D'AMATO, 1992; GUEBERT *et al.*, 2007). Dentre as espécies, a tartaruga-verde, como é conhecida a *Chelonia mydas*, é a que apresenta maior distribuição, sendo encontrada em toda costa e com frequência mais abundante próximo a regiões costeiras e ilhas devido ao hábito alimentar que tende á herbivoria durante o desenvolvimento (MÁRQUEZ, 1990). Os principais sítios reprodutivos da tartaruga-verde estão situados em ilhas oceânicas, ocorrendo eventualmente desovas no continente. No Brasil, os principais sítios são: o Arquipélago de Fernando de Noronha (PE), Atol das Rocas (RN) e Ilha de Trindade (ES), sendo este último o maior no Atlântico Sul onde desovam em média 3.000 fêmeas por ano (MARCOVALDI e MARCOVALDI, 1999; SPOTILA, 2004). Análises de DNA mitocondrial têm confirmado que esta espécie percorre mais de dois mil quilômetros entre áreas de forrageio e reprodução (LAHANAS *et al.*, 1998). Desde o nascimento seguem rotas para áreas oceânicas onde permanecem até a fase juvenil, deslocando-se posteriormente em direção a águas estuarinas e costeiras para alimentação e crescimento (LOHMAN *et al.*, 1996). Nestas áreas podem permanecer residentes, explorando os recursos disponíveis e realizando pequenos deslocamentos. (GODLEY *et al.*, 2003; SPOTILA, 2004).

As populações de tartarugas-verdes vêm sofrendo diferentes pressões ao longo do tempo. Durante muitos anos foram capturadas intencionalmente para consumo, uma prática ainda enraizada na cultura de algumas comunidades tradicionais costeiras. A caça indiscriminada, principalmente das fêmeas que se tornam vulneráveis quando chegavam à praia para desovar e a coleta de ovos, culminaram no declínio drástico das populações mundiais (MARCOVALDI e MARCOVALDI, 1987). Atualmente, a destruição dos habitats e a captura incidental são as principais ameaças à conservação das tartarugas marinhas no mundo (DOMINGO *et al.*, 2006).

Todas as espécies de tartarugas marinhas que ocorrem no Brasil estão listadas na “*Red list of Threatened Species*” (IUCN, 2007). A tartaruga-verde em particular, é considerada vulnerável no país e na lista de fauna ameaçada para o Estado do Paraná (MMA, Instrução Normativa Nº. 0003 de 27/05/2003 e IAP – Plano de Ação para Fauna Ameaçada do Estado, em preparação). Acordos internacionais (*CITES - Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora*; Convenção Internacional para Proteção e a Conservação de Tartarugas marinhas e Convenção sobre Diversidade Biológica) garantem a proteção destes animais como recurso compartilhado entre nações unindo esforços em escala mundial. Vale ressaltar que no Brasil as tartarugas marinhas são protegidas por lei sendo crime inafiançável a caça e comercialização de animais e ovos, bem como a destruição de áreas de desova (Portaria nº 005 de 31 de janeiro de 1986 e Lei de Crimes Ambientais, Lei nº 9605 de 12 de fevereiro de 1998 e portaria da SUDEPE nº. 005 de 31/01/86). Esforços mundiais vêm sendo realizados na pesquisa e conservação das tartarugas marinhas. Particularmente na área de biologia reprodutiva, pouco se sabe de indivíduos juvenis, tendo em vista que os trabalhos se concentram em áreas de reprodução e análises de desovas. A proporção sexual se apresenta como um importante parâmetro populacional no grupo das tartarugas marinhas. Outros parâmetros como tamanho de população e produtividade só podem ser corretamente estimados quando a proporção sexual é conhecida. Por estarem ameaçadas de extinção é particularmente importante o entendimento sobre respostas a impactos e medidas de conservação em longo prazo nas populações em desenvolvimento (CASALE *et al.*, 2006) Estudos envolvendo diferentes fases auxiliam no entendimento de futuras gerações sendo a análise gonadal uma importante ferramenta na geração de informações a respeito do crescimento e desenvolvimento dos indivíduos.

O presente estudo está estruturado em dois capítulos. O primeiro aborda o desenvolvimento gonadal e técnicas de diferenciação de machos e fêmeas com estudo da proporção sexual de tartarugas-verdes juvenis do litoral paranaense. Em adição, ressalta a importância deste estudo para caracterização da população local e conservação em áreas de alimentação. O segundo capítulo testa a possibilidade de identificação de machos e fêmeas baseada em características sexuais secundárias externas. É realizada uma avaliação da existência de dimorfismo sexual na fase juvenil com vistas a execução de estudos desta natureza e que possibilite o aumento de conhecimento sobre diferentes populações.

## **CAPÍTULO 1: Ontogenia gonadal e Análise de proporção sexual de tartarugas-verdes juvenis no Litoral do Estado do Paraná.**

### **RESUMO**

Estudos envolvendo biologia reprodutiva de tartarugas marinhas raramente são realizados com animais juvenis e em áreas de alimentação. Como resultado pouco se sabe a respeito do desenvolvimento gonadal e proporção sexual nas populações em desenvolvimento o que talvez permita verificar a proporção de jovens que chegam à fase adulta e efetivamente se reproduzem em uma área. Para tanto, este estudo visa a identificar a proporção sexual da população e o estágio de desenvolvimento através de análise histológica das gônadas de tartarugas-verdes em estágio juvenil, com base em amostra oriunda do litoral do Estado do Paraná. Associado ao método, algumas características gonadais como comprimento, textura, aderência e presença de ducto paramesonéfrico foram registradas com objetivo de testar sua validade na identificação do sexo dos indivíduos. Foram coletadas 127 tartarugas-verdes juvenis no período de abril de 2004 a novembro de 2008 com base no monitoramento das praias do litoral e apoio da comunidade e órgãos gestores. As tartarugas encontradas (frescas ou em estágios iniciais de decomposição) apresentaram comprimento curvilíneo de carapaça variando entre 27,5 a 68 cm, com média aproximada de 39,3 ( $\pm$  6,38) cm. Foram definidas classes de tamanho variando em 5 centímetros cada. Com relação à proporção sexual foram identificados 65 fêmeas e 62 machos, não diferindo da proporção esperada de 1:1 que é mantida entre as classes de tamanho e os anos de amostragem com exceção do verão. As características macro morfológicas das gônadas não se mostraram eficientes na identificação dos sexos, inviabilizando vários dos critérios comumente utilizados. A gametogênese encontra-se na fase de proliferação e crescimento com presença inicial de ductos seminíferos em machos e ovócitos em diferentes estágios de desenvolvimento em fêmeas. Foi possível estabelecer quatro estágios de desenvolvimento dos ovócitos com base na estrutura do citoplasma: homogêneo, vesicular; vesicular no córtex somada a grânulos aparentes e, granular com vitelogênese inicial. O desenvolvimento gonadal foi considerado concomitante com o crescimento do animal.

**Palavras-chave:** reprodução, área de alimentação, histologia, gametogênese e conservação.

## ABSTRACT

Studies of reproductive biology of sea turtles are rarely performed on juvenile animals and in feeding grounds. As a result little is known about the gonadal development and sex ratio in these populations. This study aims to identify the proportion of the population and the sexual stage of development by histological analysis of gonads of the sea turtle *Chelonia mydas* in juvenile stage, based on sample collected from Paraná State coast. Associated with the method, some gonadal characteristics as length, texture, adhesion and the presence of paramesonefric duct were recorded in order to test its validity in identifying the sex of individuals. We collected 127 juvenile green turtles, in the period of April 2004 to November 2008 based on the monitoring of beaches on the coast and the support of community members and environmental organizations. The turtles found (fresh or in the early stages of decomposition) had curve carapace length ranging from 27.5 to 68 centimeters, with an average of approximately 39.3 ( $\pm 6.38$ ) cm. Classes were defined ranging in size from 5 cm each. With respect to sex ratio were identified 65 females and 62 males. The sample does not differ from the expected ratio of 1:1 which is maintained between the size classes and years of sampling, differed only in the summer. The macro-morphological characteristics of the gonads were not efficient in identifying the sex, preventing many of the criteria commonly used. The gametogenesis is in the process of proliferation and growth with initial presence of seminiferous ducts in males and oocytes in different stages of development in females. It was possible to establish four stages of development of oocytes based on the structure of cytoplasm: homogeneous, vesicular, vesicular at the cortex in addition to apparent granules and granules with initial vitellogenesis. The gonadal development was considered concurrently with the growth of the animal.

**Keywords:** reproduction, feeding grounds, histology, gametogenesis, conservation.

## 1. INTRODUÇÃO

Trabalhos envolvendo biologia reprodutiva de tartarugas marinhas são comuns em todo o mundo. A maior parte é realizada em áreas de reprodução, envolvendo análises de desova e manejo, considerando apenas indivíduos adultos (BJORNDAL *et al.*, 2005; MARQUEZ, 1994; WITZELL, 1983). No Brasil, a tendência é mantida e poucos estudos nesta área envolvendo populações juvenis são desenvolvidos (PROJETO TAMAR, 2008; MARCOVALDI *et al.*, 1998). É consenso entre autores o reconhecimento da falta de atenção ao entendimento do desenvolvimento de tartarugas marinhas e mecanismos que envolvem a gametogênese, ovulação, produção de ovos e indicativos de ciclos reprodutivos. Reconhecer parâmetros reprodutivos como gênero, classe de idade e estágio reprodutivo são pré-requisitos para a maior parte dos estudos envolvendo ciclos reprodutivos e sistemas fisiológicos (HAMANN *et al.*, 2003). Estudos envolvendo biologia reprodutiva de tartarugas juvenis são pouco comuns, principalmente devido à dificuldade na obtenção de amostras (MENDONÇA, 1981; MEYLAN, *et al.*, 1994), em particular, com animais obtidos em áreas de alimentação (LIMPUS & WALTER, 1980). Pouco se sabe a respeito dos estágios iniciais de vida das tartarugas marinhas. Provavelmente, após o nascimento elas passam por uma fase de vida oceânica (BOLTEN, 2003) denominada muitas vezes de “anos perdidos” (*lost years*), e que podem variar de 1 a 6 anos (ZUG e GLOR, 1998). O recrutamento para a fase mais nerítica e costeira ocorre com tartarugas já em fase juvenil, com comprimento médio de carapaça variando entre 25 e 35 cm (dependendo da região) e com a adoção de uma dieta tendendo a herbivoria na espécie *Chelonia mydas* (BJORNDAL, 1997; ZUG *et al.*, 2002; GUEBERT, 2008).

No grupo das tartarugas marinhas a determinação sexual é ambiental, baseada na temperatura do segundo terço do período de incubação dos ovos (WIBBELS *et al.*, 1994). Este mecanismo foi reportado inicialmente em lagartos, na década de 1960 (CHARNIER, 1966) e somente na década de 1980 foi identificado em tartarugas-cabeçudas (YNTEMA e MROSOVSKY, 1980). Em geral, temperaturas maiores (acima de 31°C) produzem mais fêmeas, em contrapartida, em temperaturas menores (entre 28 e 30°C) há maior produção de machos (LUTZ, 1997; MROSOVSKY *et al.*, 1999). É denominada de pivotal ou pivotante, a temperatura na qual é produzido um mesmo número de machos e fêmeas.

O mecanismo de determinação do sexo dependente da temperatura tem implicações ecológicas diversas para as populações (JANZEN & PAUKSTIS, 1991). A determinação do sexo baseado na temperatura torna muito sensível a relação entre machos e fêmeas uma vez que características como cor da areia, presença de vegetação, inclinação da praia entre outros, influenciam diretamente a temperatura do ninho (WIBBELS, 2003). Em termos de conservação, a sensibilidade a estas mudanças é relevante em um cenário de crescente perda de área de reprodução e manejo de desovas. Em adição, vários estudos evidenciam a drástica queda populacional de tartarugas-verdes no mundo (HILTON e TAYLOR, 2000; FRAZIER, 2003, PANDOLFI *et al.*, 2003) chegando a 3% (três por cento) da população original (anterior a exploração humana) em regiões do Caribe, por exemplo (JACKSON *et al.*, 2001). GLEN e MROSOVSY (2004) evidenciam o impacto do aumento da temperatura na proporção sexual de filhotes. Foram comparadas estações reprodutivas em um intervalo de 30 (trinta) anos e coletada a temperatura média de incubação, consideravelmente superior a temperatura pivotal, produzindo um maior número de fêmeas. Vale ressaltar que diferenças sutis na temperatura de incubação dos ovos também interferem no metabolismo dos mesmos. Variações de temperatura dentro do próprio ninho são relevantes baseadas em diferentes partes da massa de ovos (BOOTH e ASTILL, 2001; BRODERICK *et al.*, 2001) influenciando variações desde o topo até a base (KASKA *et al.*, 1998; HOUGHTON e HAYS, 2001) e entre o centro e periferia (GODFREY *et al.*, 1996; BOOTH e ASTILL, 2001).

Neste contexto, estudos recentes sugerem que mudanças climáticas globais podem estar afetando as populações de tartarugas marinhas no mundo (DAVENPORT, 1997). A maioria dos trabalhos de determinação da proporção sexual de populações (razão entre o número de machos e número de fêmeas) indica um número excessivo de fêmeas (WIBBELS, 2003). A proporção sexual populacional tende a uma diferença que implicaria em perda genética significativa para as futuras gerações (BJORNDAL *et al.*, 2003). Associado a este fato é possível que o aumento de energia gasto para machos e fêmeas que se encontrem em áreas de reprodução, poderia comprometer o sucesso reprodutivo, sendo necessários trabalhos que indiquem áreas com proporção sexual mais equilibrada. Estes trabalhos devem ser realizados com populações juvenis e sub-adultas para conservação dos estoques genéticos (DIEZ e VAN DAM, 2003).

A caracterização de parâmetros biológicos reprodutivos é logisticamente difícil de ser realizada e há limitações técnicas por se tratarem de espécies ameaçadas de

extinção (LIMPUS, 1992; LIMPUS e LIMPUS, 2002). A inexistência de cromossomos sexuais dificulta a identificação do sexo dos indivíduos e diferentes técnicas são empregadas em estudos de biologia reprodutiva de tartarugas marinhas. Em embriões normalmente a sexagem é feita utilizando-se a temperatura média de incubação dos ovos ou o tempo de incubação (GODFREY *et al.*, 1992; MARCOVALDI *et al.*, 1997; HAYS *et al.*, 1999; MROSOVSKY *et al.*, 1999; BRODERICK *et al.*, 2000 e GODLEY *et al.*, 2002; MARCOVALDI *et al.*, 1997; GODFREY *et al.*, 2000). A utilização deste método apresenta algumas deficiências, principalmente pela variação da temperatura pivotal entre espécies, populações reprodutivas, áreas de desovas e ninhos. Estas variações, normalmente não contempladas nos estudos, podem ser determinantes no resultado da proporção sexual nas desovas (WIBBELS, 2003).

Grande parte dos trabalhos que é realizada com juvenis e sub-adultos utilizam técnicas relacionadas a três procedimentos básicos: dissecação, laparoscopia e ultrassonografia, descartando a análise de características externas (descritas no Capítulo 2). Há, ainda, o método de quantificação hormonal no plasma que pode ser realizada em indivíduos vivos (WIBBELS, 1990 e WITZELL *et al.*, 2005). Neste método é testada a concentração de estrogênio e testosterona no plasma sanguíneo via radio-imuno-ensaio. Trabalhos recentes adaptaram esta técnica para quantificação em fluido corioalantóide de ovos, porém este método ainda não é validado (GROSS *et al.*, 1995).

A laparoscopia e ultrassonografia são métodos para se detectar o sexo de indivíduos através da morfologia gonadal em observação direta (MEYLAN *et al.*, 1994; WIBBELS *et al.*, 2000; LIMPUS, 1992 e 1994). A textura gonadal é utilizada para diferenciar machos e fêmeas levando-se em consideração presença de grânulos. Os ovócitos induzem a um aspecto macroscopicamente granuloso das gônadas femininas variando nos diferentes graus de desenvolvimento das mesmas. A ausência de grânulos e coloração mais homogênea remete a uma gônada masculina (MCCOY *et al.*, 1983; VAN DER HEIDEN, 1985 e WIBBELS, 1998). Outra característica observada é a presença de ductos paramesonéfricos, presentes em ambos os sexos, que em fêmeas desenvolve o oviduto e em machos, aparentemente não tem função conhecida (LIMPUS *et al.*, 1982).

A laparoscopia é o procedimento mais utilizado, atualmente, em estudos de biologia reprodutiva envolvendo análise de gônadas. Seus benefícios e limitações vêm sendo amplamente discutidos em diversos trabalhos com tartarugas marinhas (WOOD, *et al.*, 1983; LIMPUS, 1985; LIMPUS e REED, 1985; OWENS, 1999; WIBBELS, *et al.*,



2000). Permite a observação de gônadas e ductos associados com grande detalhamento, permitindo a identificação do gênero, maturidade e estado de desenvolvimento. É um método difícil de ser executado em campo, exigindo técnicas cirúrgicas além de pessoal altamente capacitado e equipamentos adequados. (WOOD, 1983, MEYLAN *et al.*, 1994).

De maneira similar, a ultrassonografia vem sendo utilizada em vários estudos para quantificação de folículos, tamanhos, desenvolvimento de ovos e ductos associados (ROSTAL *et al.*, 1990; OWENS, 1999; WIBBELS *et al.*, 2000). É um método não invasivo, mas se limita em termos de detalhamento de imagens, restringindo-se à utilização em fêmeas no período reprodutivo (HAMANN *et al.*, 2003).

O modo mais eficiente e confiável para identificação de machos e fêmeas filhotes e juvenis é através da análise da histologia gonadal (YNTEMA e MROSOVSKY, 1980; MROSOVSKY e BENABIB, 1990; MROSOVSKY e GODFREY, 1995; MERCHANT-LARIOS, 1999; WIBBELS, 2003 e WYNEKEN *et al.*, 2007) por apresentarem grande confiabilidade na identificação sexual. Há limitações com relação à boa conservação dos tecidos necessitando de logística específica (WYNEKEN *et al.*, 2007).

Sabe-se da importância da proporção sexual na estabilidade de populações de tartarugas marinhas e da profunda carência de informações sobre a biologia reprodutiva das espécies, principalmente nos estágios iniciais de desenvolvimento. Levando-se em consideração o aparente desequilíbrio na proporção sexual das populações de tartarugas marinhas no mundo, são necessários estudos para identificar o número de machos e fêmeas nas populações, o que é fundamental para a manutenção de gerações futuras (BJORNDAL *et al.*, 2003). Este estudo visa a identificar a proporção sexual da população e o estágio de desenvolvimento através de análise histológica das gônadas da tartaruga marinha *Chelonia mydas* no litoral do Estado do Paraná. Associado ao método, algumas características gonadais foram registradas com objetivo de testar sua validade na identificação do sexo dos indivíduos.

Vale ressaltar que o desenvolvimento de estudos básicos e/ou aplicados desta natureza colabora diretamente para uma futura formulação de propostas de conservação para esta espécie.

### 2.1. Área de Estudo

O litoral paranaense abriga uma série de ecossistemas naturais preservados ou pouco modificados formando um complexo mosaico de ecossistemas, incluindo boa parcela do que resta da Floresta Atlântica Brasileira (LIMA e NEGRELLE, 1998 e DAY *et al.*, 1989). A região apresenta áreas de formações pioneiras e compreende uma rica diversidade de habitats como manguezais, marismas e restingas bem desenvolvidos, além de bancos de gramas marinhas, costões rochosos e baixios de maré (NETTO e LANA, 1997). Estes ambientes são considerados como de extrema importância para conservação de diferentes espécies que utilizam a área para reprodução ou desenvolvimento (LANA *et al.*, 2001). A porção norte apresenta diferentes Unidades de Conservação que abrigam esta variedade de ecossistemas (SOS MATA ATLÂNTICA, 2003). O litoral paranaense se apresenta com uma extensão de 98 quilômetros sendo o segundo menor litoral brasileiro. É formado por um conjunto de estuários que configuram uma costa bem recortada com extensão de 1483 quilômetros (ANGULO, 1993), e constituído por uma planície costeira com cordões litorâneos, recebendo direta e indiretamente a influência do Oceano Atlântico. (IPARDES, 1989).

Dois sistemas estuarinos caracterizam o litoral paranaense recebendo o nome de cidades que os margeiam. O Complexo estuarino de Paranaguá (25°30' S e 48°40' W) e o Estuário de Guaratuba (25°50' S e 48°40'W; Figura 1). A conformação destas áreas no litoral divide a costa paranaense em três setores: Praia Deserta, Praia de Leste e Praia do Sul. A Praia Deserta se situa ao norte de Paranaguá, desde a Ponta Inácio Dias até a Foz do Rio Ararapira, nos limites com o Estado de São Paulo. A Praia de Leste compreende as praias que se estendem de Pontal do Sul até o balneário de Caiobá. A Praia do Sul abrange as praias situadas ao sul da Baía de Guaratuba até a Ilha do Saí, nos limites com o Estado de Santa Catarina (MAACK, 1981). Podem ser identificados, também, três tipos de costa variando conforme grau de exposição e dinâmica geológica: oceânica, estuarina e associada á desembocadura (ANGULO e ARAÚJO, 1996).

O Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP) (25°30' S e 48°40' W) é classificado como parcialmente misturado dependendo fortemente da interação entre o aporte proveniente da drenagem continental de água doce e as marés (ANGULO, 2000; LANA *et al.*, 2001). É um dos maiores estuários do Brasil (677km<sup>2</sup>) e penetra 50 quilômetros

pelo interior do continente possuindo uma largura máxima de 10 quilômetros. Subdivide-se em baías menores como a Baía de Antonina, Baía das Laranjeiras, Baía dos Pinheiros e Baía de Guaraqueçaba. Há em seu interior várias ilhas tais como Ilha do Mel, Ilha das Peças, Ilha de Superagui, Ilha da Cotinga, Ilha Rasa da Cotinga, Ilha das Cobras, Ilha das Pedras entre outras (MAACK, 1981). É considerado o terceiro ecossistema no mundo em termos de produtividade primária (BARCELOS, 2003) e apresenta área de manguezal correspondendo a 80% (oitenta por cento) da existente em todo o litoral do Estado (NOERNBERG, 2001). Sua importância é relacionada também à grande quantidade de atividades humanas que se realizam na região (LAMOUR *et al.*, 2004). A Baía ou estuário de Guaratuba (25°50' S e 48°40'W) encontra-se mais ao sul, estendendo-se 15 quilômetros terra adentro com uma largura máxima de 5 quilômetros e área de 1886 quilômetros quadrados. Suas principais ilhas são a Ilha Pescaria, Ilha Capinzal, Ilha Mato, Ilha dos Ratos entre outras (MAACK, 1981).

A salinidade e energia variam em diferentes gradientes e controlam o padrão de distribuição vegetal e disponibilidade de alimento. De uma forma geral, há deposição de sedimentos próximo à desembocadura de rios, com aumento de bancos de sedimentos (baixios). Há ocorrência de baixios de maré da região cobrindo uma área de 310 quilômetros quadrados com extensão máxima de 2 quilômetros no CEP. Estas regiões podem permanecer emersas em marés baixas (COUTO, 1996). Estes sistemas podem ser colonizados ou permanecer sem vegetação (NETTO e LANA, 1997) sendo favoráveis ao desenvolvimento de bancos de grama marinha, principal alimento de tartarugas-verdes na região (LANA *et al.*, 2001 e GUEBERT, 2008). Mesmo assim, gramas marinhas ocorrem em pontos isolados e não formam grandes concentrações, principalmente pela alta turbidez da água (SORDO, 2007).

Com relação aos impactos na área, destacam-se a urbanização (ocorrência de grandes cidades e aporte de resíduos, desenvolvimento de áreas portuárias) e a exploração pesqueira. A retirada da mata ao longo das bacias hidrográficas que tem contribuído com o maior aporte de sedimentos carregados pelos rios e conseqüente assoreamento das baías (ANDRIGUETTO, 1993). Em adição, atividades portuárias requerem constantes dragagens que alteram o fundo e disponibilizam sedimentos potencialmente contaminados na coluna de água (BOLDRINI, 2007).

No Estado do Paraná a tartaruga-verde foi registrada em toda extensão do litoral (FIGURA 1) ocorrendo nas áreas de entorno do Parque Nacional do Superagui, da

Estação Ecológica de Guaraqueçaba, da Estação Ecológica da Ilha do Mel, da Área de Proteção Ambiental de Guaraqueçaba e Guaratuba (Projeto Tartarugas/IPeC, dados não publicados).

O trabalho foi realizado com maior intensidade com animais obtidos nas áreas do Complexo Estuarino de Paranaguá e no município de Pontal do Paraná nos quais ocorre coleta periódica. Nos municípios de Matinhos, Guaratuba e demais áreas pelo apoio de órgãos gestores e comunidade.

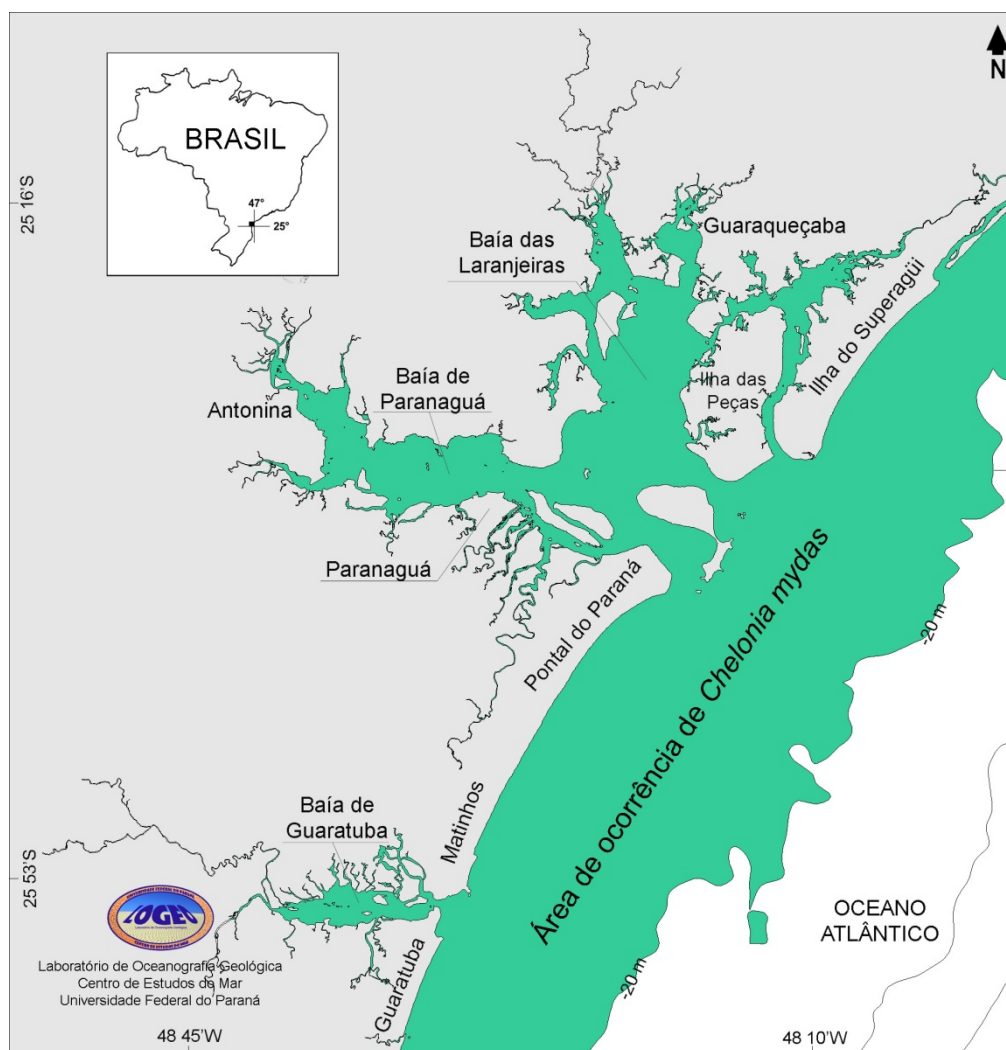


FIGURA 1: Mapa do Litoral do Estado do Paraná com área de ocorrência de *Chelonia mydas* em verde. (Créditos: Laboratório de Oceanografia Geológica – CEM/UFPR).

## 2.2. Procedimentos

As tartarugas-verdes utilizadas neste estudo foram obtidas no período de abril de 2004 a novembro de 2008 com base no monitoramento das praias do Litoral e do Complexo Estuarino de Paranaguá, e oriundas do Centro de Reabilitação do Centro de Estudos do Mar (CEM/UFPR), além de animais encaminhadas pela comunidade em geral e órgãos gestores aos pesquisadores e ao CEM/UFPR.

O monitoramento semanal das praias foi realizado para a coleta de animais encontrados mortos na região. Foram percorridos em automóvel cerca de 30 km de praia desde o balneário de Pontal do Sul ao balneário de Monções. Além das praias foram amostradas as localidades de Pontal II, Maciel e balneários do município de Matinhos, porém, de forma irregular. Mensalmente, foram realizadas quatro expedições para as baías e ilhas que compõem o Complexo Estuarino de Paranaguá nas quais foram monitoradas as praias da Ilha das Peças (desde a Ponta da Coroa até a Vila das Peças), Ilha de Superagui (nas proximidades da Vila) e Ilha do Mel (Nova Brasília, Ponta Oeste e Fortaleza).

Paralelamente ao trabalho de monitoramento, contatos foram mantidos com as comunidades e órgãos ambientais que apóiam os trabalhos realizados na região. Esforços na divulgação do monitoramento da mortalidade das tartarugas marinhas estão em andamento através de cartazes, folders e mídia (jornais e televisão) ressaltando a importância da recuperação dos animais encontrados, para fins de pesquisa e conservação das espécies. Associado a divulgação são desenvolvidas atividades de sensibilização ambiental e participação em eventos de caráter ambiental e de gestão costeira. Este trabalho aumenta as chances de recuperação de animais encontrados nas demais localidades do litoral paranaense.

As tartarugas coletadas foram identificadas e classificadas conforme estágio de decomposição em fresca, parcialmente decomposta, decomposição avançada e carcaça seca. Neste estudo foram consideradas as tartarugas frescas e parcialmente decompostas. As medidas básicas de tamanho foram tomadas (comprimento e largura curvilínea de carapaça) de todos os indivíduos. Todos foram considerados juvenis quando comparados ao tamanho máximo de comprimento e largura de carapaça definidos nos estudos de BALAZS e CHALOUPKA (2004) para diferentes populações de tartarugas-verdes no mundo. Para estes autores, a tartaruga-verde atinge a maturidade sexual, no mínimo, com 80 centímetros de comprimento de carapaça. As

classes de idade foram definidas pelo tamanho máximo de comprimento e largura de carapaça.

Após estes procedimentos, os animais foram dissecados a partir da parte ventral (plastrão). As gônadas foram retiradas integralmente sendo analisadas visualmente quanto a textura, aderência e evidência de ducto paramesonéfrico. A classificação da textura dividiu-se em granulosa, lisa (*cf.* LUTZ *et al.*, 2003) e mista (WYNEKEN *et al.*, 2007 e ROSA, 2005). A aderência em solta (fêmeas) ou fixa (machos) seguindo critérios semelhantes aos encontrados em WYNEKEN (2007). As gônadas com maior superfície exposta e que apresentem reentrâncias, são fêmeas. Já gônadas delgadas, fixas á parede abdominal correspondem a machos.

Após a retirada, as gônadas foram fixadas em ALFAC (80% de álcool, 15% de formol e 5% de ácido acético) ou eventualmente em formol a 10% e conservadas em álcool a 80%. A seguir foram registrados os comprimentos máximos das gônadas, em milímetros com auxílio de paquímetro, sendo a direita adotada como padrão para esta análise. Novamente a aderência e textura foram registradas no material fixado para comparação com dados obtidos do material sem preparação. Este procedimento foi realizado para validação da utilidade de material gonadal fixado e tombado em coleções científicas para realização de trabalhos futuros. Do material gonadal fixado foram retirados cortes de, no máximo, cinco milímetros. Os cortes seguem padrão transversal medial com relação ao comprimento máximo da gônada. Os fragmentos foram levados ao Laboratório de Histotecnologia (Setor de Ciências Biológicas – UFPR) onde foi feita a preparação de lâmina histológica permanente (protocolo anexo).

A análise feita em microscópio de luz visa a identificar o sexo e estágio de desenvolvimento gonadal de machos e fêmeas com base na presença de células germinativas. A identificação foi baseada no proposto por MERCHANT-LARIOS (1999) e revisto por MILLER e LIMPUS(2003). Os autores avaliam as características gerais dos tecidos considerando, principalmente a presença ou ausência de ovócitos. Os resultados obtidos a partir dessa análise são utilizados na determinação da proporção sexual da população analisada. Na análise do material são adotados os critérios de desenvolvimento proposto por GARCIA *et al.*, (1991) que dividem as fases do desenvolvimento ontogenético em gametogênese, fertilização e processos de desenvolvimento do embrião para vertebrados em geral. Na gametogênese têm-se três fases: de proliferação, crescimento e maturação. Os eventos que ocorrem na gametogênese são específicos para machos e fêmeas.

Na proliferação em fêmeas as ovogônias dividem-se mitoticamente e aumentam seu número. Estas células, quando cessam a proliferação, aumentam de volume e preparam-se para divisão meiótica que origina ovócitos primários caracterizando a fase de crescimento. Na maturação ocorre a vitelogênese que consiste na produção de nutrientes, por parte da fêmea, visando a nutrição do embrião em desenvolvimento. Para machos a proliferação é caracterizada pela presença de espermátócitos que são produzidos por mitose. Na fase de crescimento os espermátócitos situam-se no lúmen dos túbulos seminíferos e produzem espermátides. Os processos que geram espermatozóides a partir da espermátide caracterizam a fase de maturação.

Critérios adotados por MILLER e LIMPUS (em LUTZ, 2003) foram considerados para caracterizar gônadas femininas e masculinas. Os indivíduos caracterizados como fêmeas apresentaram gônada condensada com células germinativas bem aparentes (presença de ovócito maior que células adjacentes das membranas envoltórias). Os testículos foram caracterizados por um tecido menos condensado com muitos ductos aparentes e células com tamanho homogêneo. Os ductos são os túbulos seminíferos e as células que formam o ducto são basicamente as da linhagem espermática. Os ovários podem apresentar ovócitos em diferentes estágios de desenvolvimento, sendo caracterizados mais desenvolvidos os que apresentam vesículas ou grânulos citoplasmáticos. As vesículas e grânulos citoplasmáticos caracterizam a reserva de nutrientes na célula, podendo ser o início da vitelogênese. Vitelo é um termo morfológico que serve para indicar as diferentes substâncias nutritivas presentes no ovo (GARCIA *et al.*, 1991).

Os resultados obtidos a partir da análise gonadal foram utilizados para caracterização do estágio de desenvolvimento. A classificação de estágio de desenvolvimento segue o proposto por ROSA (2005). O estágio inicial (Ho) caracteriza-se pela homogeneidade do citoplasma. Nesta fase as células têm seu citoplasma aumentado, mas a síntese de material de reserva não é evidente. A segunda fase (Vc) caracteriza-se pela presença de vesículas no citoplasma, porém, a distribuição não é uniforme e os grânulos não são evidentes. A próxima fase de desenvolvimento (Vp) apresenta ovócitos com vesículas no córtex do citoplasma e grânulos aparentes. O último estágio de desenvolvimento (Gr) encontrado na amostra é caracterizado por ovócitos granulosos e com maior aumento de citoplasma. Isso indica uma maior produção de material de reserva podendo ser caracterizada como vitelogênese inicial.

Após a análise histológica, foi determinada a proporção sexual da população como um todo. Para aferir uma possível variação da proporção sexual de 1:1 foi utilizado o teste  $\chi^2$ . A seguir, classes de tamanho foram definidas com intervalos de 5 cm cada. A razão sexual foi testada com relação a estas classes e á sazonalidade levando-se em consideração os meses, as estações do ano e os anos.

Dados de comprimento e de maturação gonadal foram sobrepostos aos dados de comprimento de carapaça dos animais testando uma possível relação. Foi averiguado se as características visuais gonadais permitem a identificação do sexo previamente reconhecido via histologia, visando à validação da utilização destas características na separação dos sexos. Todos os testes estatísticos foram realizados no programa *Statistica 7.0*.

### 3. RESULTADOS

Durante o período amostrado foram coletadas 127 tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) encontradas mortas na região de estudo. Os indivíduos da amostra apresentaram comprimento de carapaça variando entre 27,5 a 68 cm, com média aproximada de 39,3 ( $\pm 6,38$ ) centímetros, sendo considerados juvenis segundo estudos de BALAZS E CHALOUPIKA (2004). Foram definidas nove classes de tamanho com intervalo de cinco centímetros cada, sendo que somente em oito classes foram obtidas amostras (FIGURA 2).

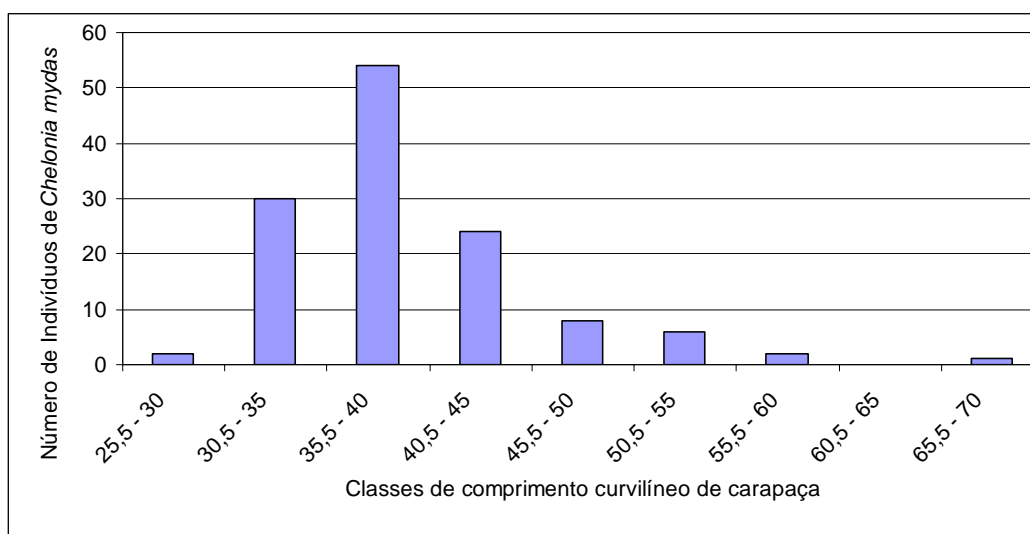


FIGURA 2: Distribuição em classes de comprimento curvilíneo de carapaça de 127 indivíduos de tartarugas-verdes juvenis coletados no litoral do Estado do Paraná de abril de 2004 a novembro de 2008.



Com relação a proporção sexual, entre os 127 indivíduos, 65 foram consideradas fêmeas e 62, machos. A amostra apresenta proporção sexual de uma fêmea para cada 0,95 macho, não diferindo significativamente da proporção esperada de uma fêmea por macho ( $X^2 = 0.79$ ; g.l.=1;  $0,75 > P > 0,50$ ).

Com relação a proporção sexual por classe de tamanho curvilíneo de carapaça (TABELA 1), foram testadas as três classes intermediárias, de 30,5 a 45 cm que apresentaram número amostral suficiente. Em nenhuma destas classes foi observada diferença significativa no número de machos e fêmeas.

TABELA 1: Número de machos, fêmeas e proporção sexual de tartarugas-verdes juvenis coletadas no Estado do Paraná, por classe de tamanho curvilíneo de carapaça.

<b>Classes de Tamanho</b>	<b>Nº Machos (M)</b>	<b>Nº Fêmeas (F)</b>	<b>Total</b>	<b>Proporção (F/M)</b>
25,5 - 30	0	2	2	-
30,5 - 35	17	13	30	0,76
35,5 - 40	30	24	54	0,80
40,5 - 45	9	15	24	1,67
45,5 - 50	2	6	8	3,00
50,5 - 55	1	5	6	5,00
55,5 - 60	2	0	2	-
60,5 - 65	0	0	0	-
65,5 - 70	1	0	1	-
<b>Total</b>	<b>62</b>	<b>65</b>	<b>127</b>	<b>1,05</b>

A proporção sexual foi analisada em cada ano, sendo que em 2004, 2005 e 2008 a porcentagem de machos foi maior e nos anos de 2006 e 2007 o número de fêmeas foi superior (TABELA 2), mas as diferenças não foram significativas.

TABELA 2: Número de machos, fêmeas e proporção sexual de tartarugas-verdes juvenis coletadas no Estado do Paraná, por ano.

<b>Ano</b>	<b>Nº Machos (M)</b>	<b>Nº Fêmeas (F)</b>	<b>Total</b>	<b>Proporção (F/M)</b>
2004	13	9	22	0,69
2005	5	4	9	0,80
2006	4	5	9	1,25
2007	20	29	49	1,45
2008	20	18	38	0,90

Da mesma forma, a proporção sexual foi testada em cada estação do ano (TABELA 3), sendo considerada significativa no verão ( $X^2 = 3,84$ ; g.l.=1;  $p=0,019$ ).

TABELA 3: Número de machos, fêmeas e proporção sexual de tartarugas-verdes juvenis coletadas no Estado do Paraná, por estações do ano no período de 2004 a 2008.

<b>Estação do ano</b>	<b>N° Machos (M)</b>	<b>N° Fêmeas (F)</b>	<b>Total</b>	<b>Proporção (F/M)</b>
Verão	1	8	9	8,00
Outono	12	11	23	0,92
Inverno	23	12	35	0,52
Primavera	26	34	60	1,31

Os dados de textura de gônadas puderam ser distribuídos nas três categorias já propostas em literatura (FIGURA 3) ocorrendo tanto em machos como em fêmeas (TABELA 4). Não houve diferença na textura e aderência entre os dados coletados no momento da dissecação como após a fixação dos tecidos em 100% da amostra.

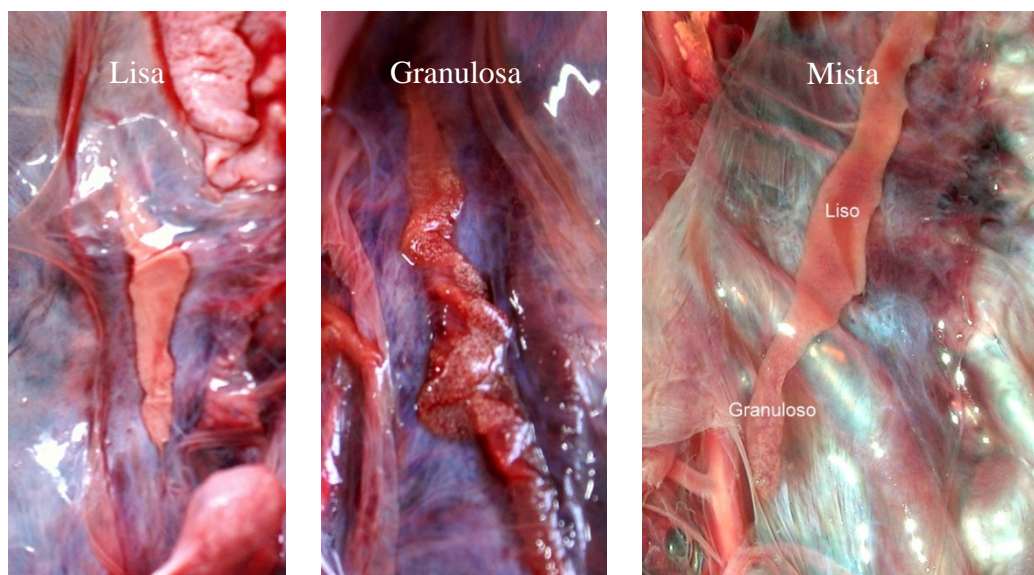


FIGURA 3: Categorias de textura para *Chelonia mydas* juvenis coletadas no Litoral do Estado do Paraná entre 2004 e 2008.

A correspondência entre textura gonadal granulosa para fêmeas e lisa para machos foi pouco válida. As gônadas com textura granulosa corresponderam a 80% das gônadas femininas e as lisas a 71% dos machos. As gônadas mistas corresponderam tanto a machos quanto a fêmeas.

TABELA 4: Categorias de textura gonadal em machos e fêmeas juvenis de 127 indivíduos de tartarugas-verdes coletadas no Estado do Paraná entre 2004 e 2008.

<b>Sexo</b>	<b>Granulosa</b>	<b>Lisa</b>	<b>Mista</b>
Fêmea	45	9	11
Macho	9	44	9
<b>Total</b>	<b>54</b>	<b>53</b>	<b>20</b>

A textura gonadal foi verificada em cada classe de tamanho (TABELA 5) para evidenciar se em determinada classe ou a partir de uma determinada classe, a textura pode ser uma característica precisa na separação dos sexos. Em nenhuma classe foi evidente a validade do método.

TABELA 5: Número de machos e fêmeas de tartarugas-verdes juvenis coletadas no Estado do Paraná, por categorias de textura gonadal e aderência separadas por classe de tamanho curvilíneo de carapaça.

<b>Sexo</b>	<b>Granulosa</b>	<b>Lisa</b>	<b>Mista</b>	<b>Solta</b>	<b>Fixa</b>
<i>25,5 a 30 cm</i>					
Fêmea	2	-	-	2	-
Macho	-	-	-	-	-
<i>30,5 a 35 cm</i>					
Fêmea	7	4	2	13	-
Macho	1	12	4	17	-
<i>35,5 a 40 cm</i>					
Fêmea	15	2	7	18	1
Macho	6	22	2	10	8
<i>40,5 a 45 cm</i>					
Fêmea	11	2	2	11	1
Macho	1	7	1	2	5
<i>45,5 a 50cm</i>					
Fêmea	5	1	-	5	1
Macho	-	1	1	2	-
<i>50,5 a 55 cm</i>					
Fêmea	5	-	-	5	-
Macho	1	-	-	-	-
<i>55,5 a 60 cm</i>					
Fêmea	-	-	-	-	-
Macho	-	2	-	-	1

A aderência foi classificada em solta e fixa (FIGURA 4) e testada em 96 amostras por falha na conservação do restante do material. Na amostra, 72 gônadas foram caracterizadas como soltas. Destas, 49 eram gônadas femininas e 23 eram masculinas e apesar desta diferença ser significativa ( $X^2 = 4.85$ ; g.l.= 1;  $p = 0,02$ ) esta característica não foi adequada para a caracterização dos sexos, pois ambos podem apresentar a mesma forma. Vinte e quatro gônadas foram caracterizadas como fixas, sendo 21 masculinas e 3 femininas e mesmo que a correspondência tenha sido mais precisa ( $X^2 = 7.85$ ; g.l.= 1;  $p = 0,005$ ), esta característica também não permite a

determinação segura dos sexos de tartarugas-verdes juvenis. Novamente, a característica foi separada nas classes de tamanho propostas inicialmente (TABELA 5), e assim como anteriormente, não se mostrou efetiva na separação de machos e fêmeas.

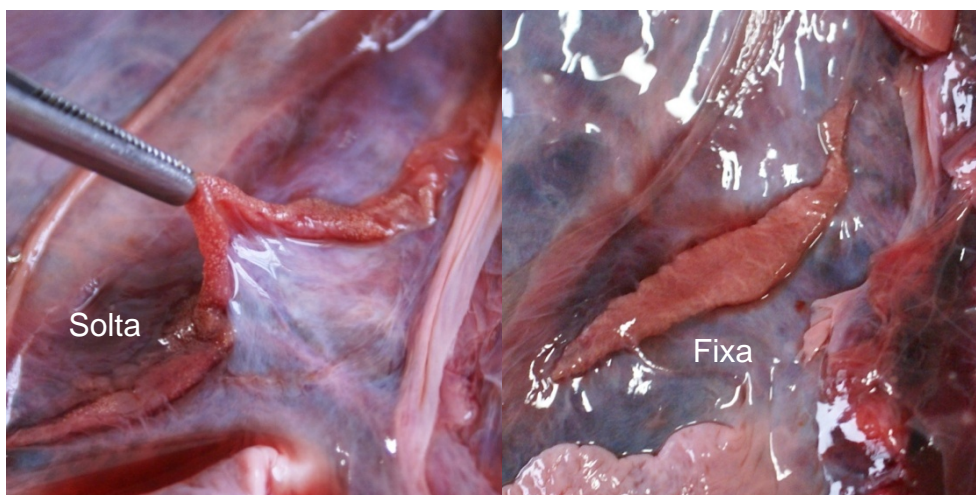


FIGURA 4: Categorias de aderência para tartarugas-verdes juvenis coletadas no Litoral do Estado do Paraná entre 2004 e 2008.

Com relação à presença do ducto paramesonéfrico (FIGURA 5), a estrutura ficou evidente em 123 amostras, correspondendo a 97% de todas as gônadas coletadas. Desta forma, a presença de ducto paramesonéfrico em equivalência ao oviduto não é uma boa característica para separação dos sexos.



FIGURA 5: Cavidade abdominal de tartarugas-verdes juvenis coletadas no Estado do Paraná com ducto paramesonéfrico evidenciado.

Foram utilizadas 98 amostras de gônada para coleta de comprimento máximo. A correlação entre as medidas de comprimento curvilíneo de carapaça e comprimento linear de gônadas foi pequena ( $r = 0.07721$ ; FIGURA 3) mostrando que não há um crescimento concomitante em comprimento de carapaças e gônadas.

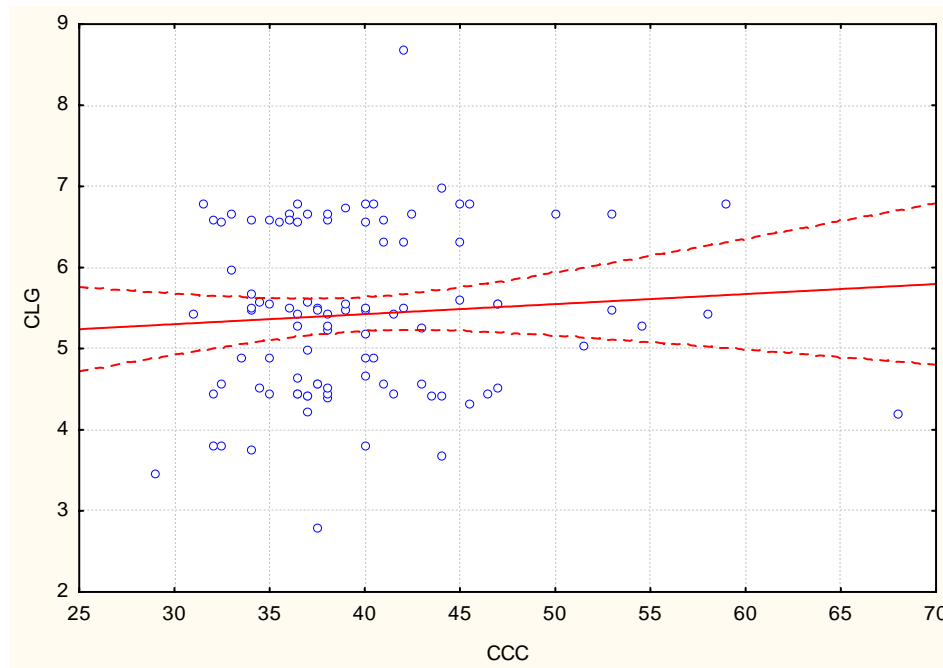


FIGURA 6: Correlação entre as medidas de Comprimento Curvilíneo de carapaça (CCC) e Comprimento linear de gônada (CLG) de 98 indivíduos de tartarugas-verdes juvenis coletados no litoral paranaense que apresentaram tecido gonadal fixado adequado para o estudo.

A gametogênese dos 127 indivíduos de *Chelonia mydas* encontravam-se na fase de proliferação e crescimento. O número de células germinativas aumenta e estas começam a adquirir características próprias. Em relação aos 62 machos analisados, não foram encontrados espermatozóides. Porém, os ductos espermáticos iniciais são bem evidentes (FIGURAS 7 e 8).



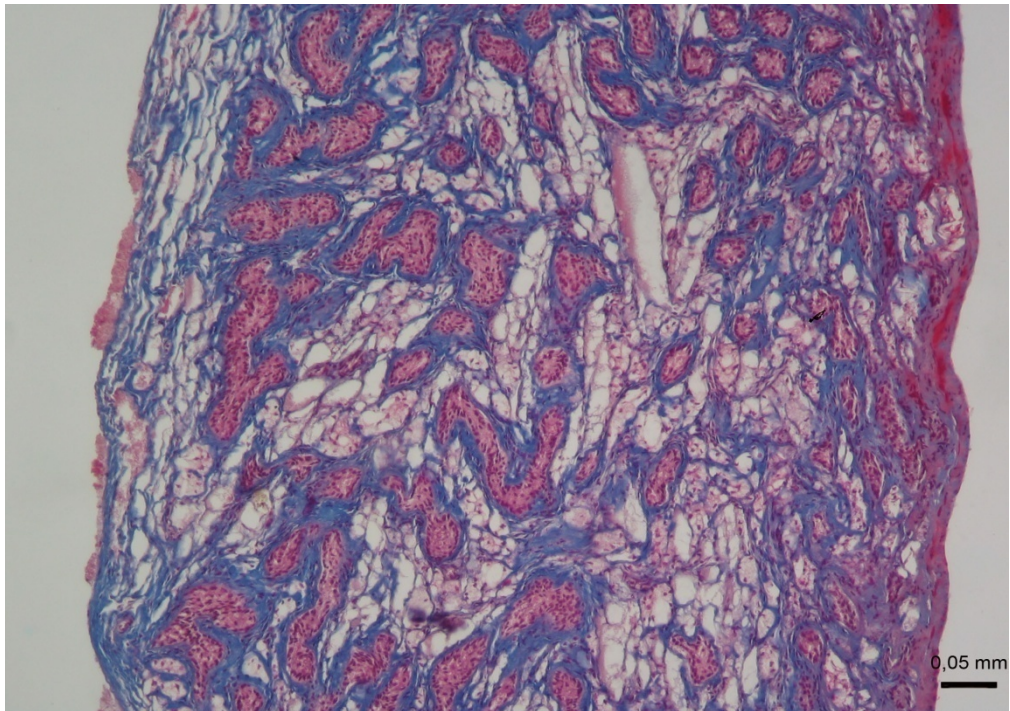


FIGURA 7: Corte histológico de testículo de tartaruga-verde juvenil apresentando túbulos seminíferos corado com H/E.

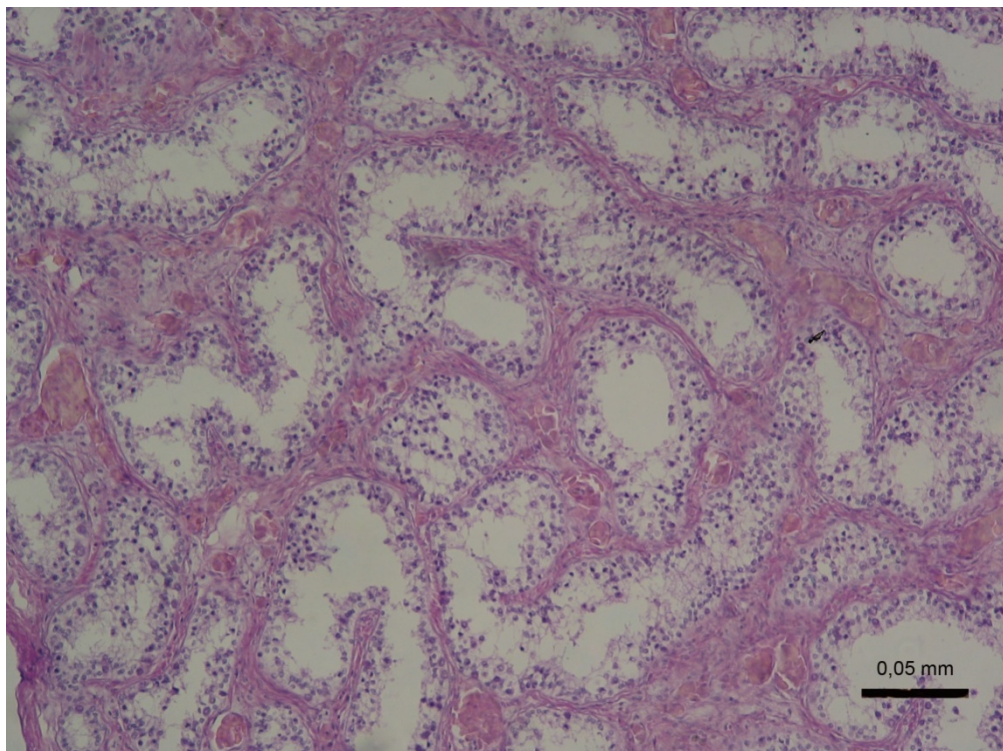


FIGURA 8: Detalhe de túbulos seminíferos em corte histológico de testículo de tartaruga-verde juvenil corado com H/E.

Em um total de 65 fêmeas analisadas todas apresentaram ovócitos com citoplasma aumentado de tamanho o que indica uma fase de crescimento. O



predomínio na amostra foi de ovócitos granulares, levando-se em consideração que pode ser reflexo da decomposição inicial do tecido. Para análise de desenvolvimento somente as amostras provenientes de tartarugas frescas foram consideradas. As 21 amostras que apresentaram boa preservação dos tecidos indicam que as características citoplasmáticas presentes nos ovócitos são reflexos do desenvolvimento dos mesmos (FIGURAS 9 e 10).

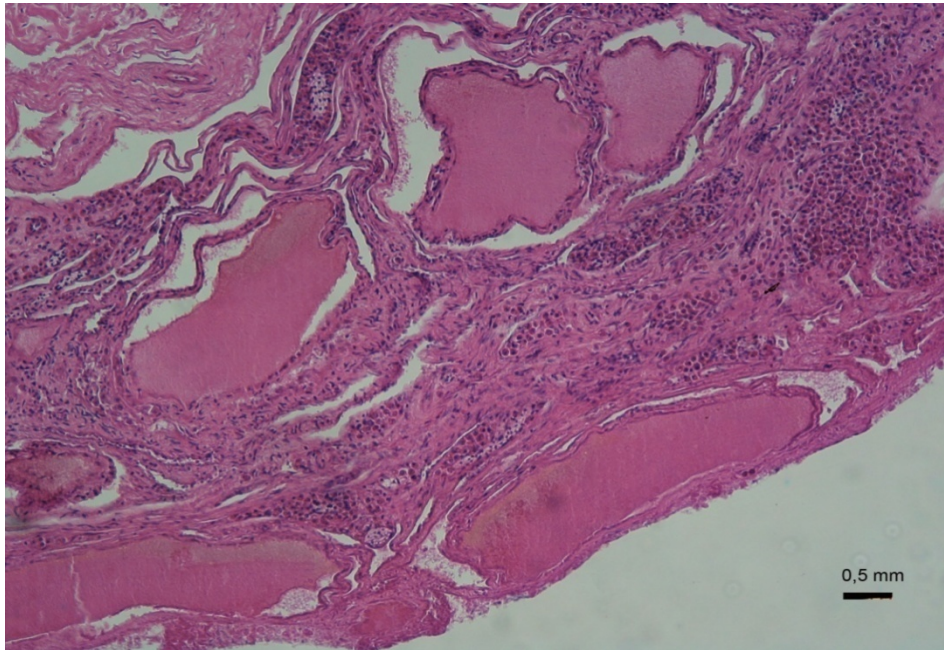


FIGURA 9: Corte histológico de gônada feminina de tartaruga-verde juvenil com ovócitos homogêneos; corado com H/E.

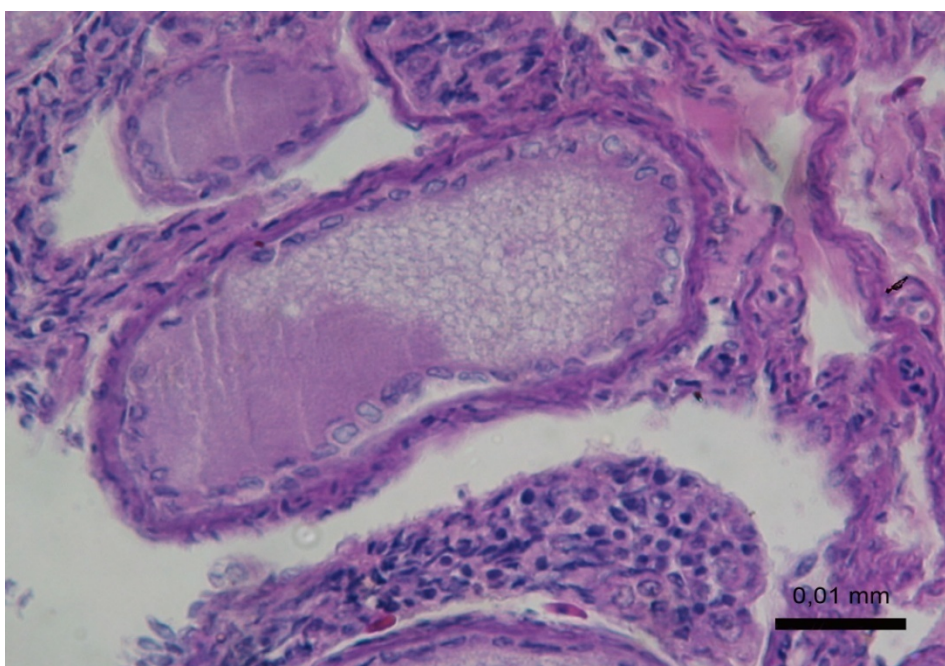


FIGURA 10: Corte histológico de gônada feminina de tartaruga-verde juvenil com presença de ovócitos com vesículas no citoplasma; corado com H/E.

Com base na análise das 21 amostras de tecido gonadal foi possível estabelecer quatro estágios de desenvolvimento dos ovócitos (TABELA 6).

TABELA 6: Dados de 21 fêmeas de tartarugas-verdes juvenis coletadas no litoral paranaense contendo: frequência de ocorrência da fase na amostra, média do Comprimento curvilíneo de carapaça (CCC) em centímetros, descrição do estágio de desenvolvimento proposto e classificação referente à fase de desenvolvimento.

<b>Frequência</b>	<b>Média CCC</b>	<b>Estágio de Desenvolvimento Proposto</b>	<b>Fase</b>
4	31,8 ( $\pm 2,56$ )	Ovócitos homogêneos, presença inicial de vesículas.	Ho
7	36,9 ( $\pm 2,36$ )	Ovócitos homogêneos, presença inicial de vesículas.	Vc
8	42,4 ( $\pm 2,42$ )	Vesículas periféricas, presença inicial de grânulos.	Vp
2	53,8 ( $\pm 0,80$ )	Até ovócito granuloso.	Gr

Os dados da fase de desenvolvimento estabelecida para cada fêmea foram correlacionados com os de comprimento curvilíneo de carapaça (CCC; FIGURA 11), ( $r=0,68$ ,  $p<0,05$ ), indicando um desenvolvimento gonadal concomitante com o crescimento do animal.

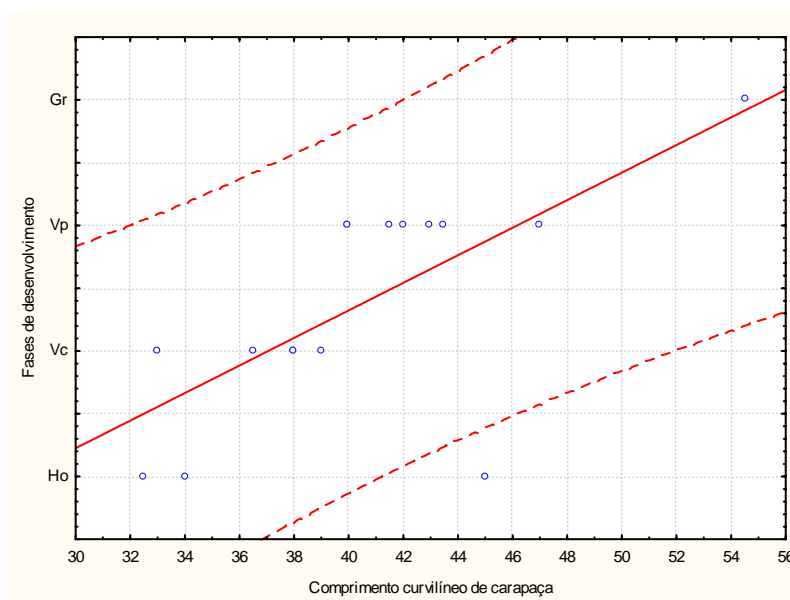


FIGURA 11: Relação entre medida de comprimento curvilíneo de carapaça em centímetros e estágio de desenvolvimento gonadal para a amostra de 21 fêmeas de tartarugas-verdes juvenis coletadas no Litoral do Paraná.



A amostra de tecido gonadal da fêmea com menor medida de comprimento de carapaça (32 cm) foi a que apresentou ovócitos com citoplasma mais homogêneo, contendo poucas vesículas e grânulos. A amostra da fêmea com maior comprimento de carapaça (53 cm) apresentou tanto ovócitos homogêneos quanto com vesículas e granulosos, o que indica a presença de diferentes fases de desenvolvimento de ovócitos dentro da gônada.

#### 4. DISCUSSÃO

Com base nas características dos elementos celulares ao longo do desenvolvimento gonadal, as tartarugas marinhas amostradas no presente estudo foram todas consideradas juvenis, com comprimentos de carapaça variaram de 27 a 63 centímetros. Características semelhantes já haviam sido apresentadas por Balazs e Chaloupka (2004) para diferentes populações de tartarugas-verdes no mundo, permitindo supor que independente do local onde nascem e para onde vão, considerando aí as influências das variações climáticas (DAVENPORT, 1997) as tartarugas-verdes tendem a apresentar os mesmos padrões de crescimento e desenvolvimento gonadal durante esta fase de vida.

Muitas são as técnicas utilizadas na identificação do sexo em tartarugas marinhas, com pouca aplicabilidade reconhecida para a fase juvenil. A facilidade e aplicabilidade da quantificação da temperatura e tempo de incubação dos ovos favoreceram sua utilização contribuindo com o entendimento da proporção sexual na fase embrionária do desenvolvimento das tartarugas marinhas. Estudos publicados no mundo de análise da razão sexual de determinadas populações utilizaram o método de mensuração da temperatura e tempo de incubação dos ovos (MARCOVALDI *et al.*, 1997; KASKA *et al.*, 1998; MROSOVSKY *et al.*, 1999; GODFREY *et al.*, 2000; GODLEY *et al.*, 2001; REES e MARGARITOU LIS, 2004). VALADEZ *et al.* (2000) acreditam que a identificação dos sexos feita com filhotes pode apresentar dados que não correspondem á realidade. A razão sexual muda dependendo da distribuição temporal e isso significa que dependendo da época do ano a diferença no número de machos e fêmeas pode variar amplamente. Porém, descrições matemáticas de padrões de temperatura mostram que o equilíbrio no nascimento de machos e fêmeas é garantido dentro da estação reprodutiva (GODLEY *et al.*, 2002). A identificação dos

sexos de filhotes recém eclodidos tende a dar uma proporção de 1:1 entre machos e fêmeas quando a amostragem é temporal. Mas poucos são os dados referentes a esta proporção em populações com indivíduos jovens e sub adultos (BOLTEN *et al.* 1992). É consenso que este tipo de análise é essencial para garantir o desenvolvimento adequado e o suporte genético das futuras populações de tartarugas marinhas (BJORNDAL *et al.*, 2005).

Os estudos realizados com indivíduos adultos possuem elevados custos operacionais na coleta de indivíduos e podem não representar a proporção sexual da população estudada. Isto se deve ao fato de machos e fêmeas adultos apresentarem padrões de migração muito distintos (WIBBELS, 2003). Machos normalmente estão mais dispersos, concentrando-se em áreas de reprodução em determinados períodos (SPOTILA, 2004; GODLEY *et al.*, 2003). Como se sabe pouco a respeito do comportamento sexual das tartarugas, bem como seus padrões de migração, a determinação dos sexos realizada em adultos engloba variáveis ainda pouco conhecidas. Por outro lado, estudos realizados na fase juvenil apresentam os dados mais acurados de razão sexual, pois não envolvem variáveis como determinação de temperatura e migração (WIBBELS, 2003).

Outra importante questão é a crescente divulgação do aumento do número de fêmeas e desovas em determinadas regiões, considerada de grande relevância para conservação das espécies (GLEN e MROSOVSKY, 2004; BRODERICK, *et al.*, 2001; CHALOUPKA, 2001). Credita-se este aumento à população em geral, mas o fato pode estar relacionado diretamente com o aumento de fêmeas em locais específicos e não do aumento populacional em si. Evidentemente o aumento de fêmeas tende a aumentar o número populacional, mas se pode pensar em uma menor variabilidade e aumento de suscetibilidade destas novas gerações. (BJORNDAL *et al.*, 2005; LAHANAS, 1998, DAVENPORT, 1997). Desta forma, adicionado à negligência de estudos que envolvam a fase juvenil de tartarugas marinhas, estudos em outras fases de vida apresentam muitas limitações e erros embutidos.

Grande parte dos trabalhos sobre determinação de sexos realizados com tartarugas verdes apresenta uma proporção maior de fêmeas, assim como em outras espécies, sendo a maioria realizados com sub-adultos e adultos (WIBBELS, 2003; BALASZ e CHALOUPKA, 2004). Contudo, segundo BOLTEN (1992) não existe padrão na proporção sexual entre populações de juvenis nos poucos estudos já desenvolvidos. Este é o caso dos dados obtidos no CEP onde a proporção sexual foi de 1:1 ao longo

de quatro anos e também em cada um dos anos de estudo, mesmo que com pequenas variações.

A proporção sexual pode variar dentro da população nas diferentes classes de tamanho (BOLTEN, 1992), entretanto, a separação das tartarugas-verdes coletadas no CEP em classes de tamanho evidenciou que a despeito das pequenas variações, as proporções não diferiram significativamente do esperado. Isto nos mostra que a proporção geral obtida com os dados de todo o período é reflexo das proporções parciais sazonais e de classes de idade e não função de proporções que potencialmente se equilibram com o tempo.

De uma forma geral os machos têm padrão de deslocamento maior do que as fêmeas (FITZSIMMONS, 1997). Este dado pode explicar a sazonalidade na proporção sexual com relação às estações de inverno, quando os principais sítios de alimentação da área estão reduzidos (SORDO, 2007 e GUEBERT, 2008). Nestas ocasiões, mais machos são registrados e isto muito provavelmente ocorre por estarem se deslocando em maior número e, conseqüentemente sujeitos a mais ameaças.

Como a maioria dos estudos está limitado a filhotes recém eclodidos e o estágio de vida adulto, principalmente de fêmeas em áreas de desova (CHALOUPKA e MUSICK, 1997), os esforços em conhecer a biologia de juvenis nos levam a compreender os possíveis reflexos sobre as futuras populações de adultos, permitindo que possamos detectar problemas e propor soluções (BJORNDAL *et al.*, 2005). O longo período para maturação sexual das tartarugas é uma característica que dificulta sua adaptação às mudanças climáticas (DAVENPORT 1997; BJORNDAL, *et al.*, 2005) e a possíveis pressões seletivas por influência humana como por exemplo a pesca incidental e a captura como recurso alimentar (DOMINGOS *et al.*, 2006). O agravante é que variações na proporção sexual das populações levam muito tempo para serem evidenciadas (GLEN e MROSOVSKY, 2004) e estratégias para equilibrar sexualmente as populações (HAYS *et al.*, 1999) não tem sido detectadas.

De forma geral, todos os métodos empregados no reconhecimento dos sexos de tartarugas marinhas apresentam falhas. Diferentes autores (MEYLAN *et al.*, 1994; WIBBELS *et al.*, 2000; LIMPUS, 1992 e 1994) utilizaram a técnica de laparoscopia para determinar a textura da gônada e assim estabelecer o sexo dos espécimes estudados. Contudo, a textura e aderência das gônadas das tartarugas-verdes analisadas neste trabalho se mostraram pouco eficientes na determinação sexual, tendo em vista os erros na identificação do sexo de mais de 20% da amostra. Quando considerada

somente a textura granulosa e lisa como forma de diferenciar machos de fêmeas, contudo, a proporção sexual não difere da encontrada na análise histológica, mas como foi evidenciado um estágio intermediário onde a gônada é parcialmente granulosa, não é possível utilizar a textura da gônada como característica diagnóstica do sexo, pois a imprecisão passa a ser grande. Mesmo considerando o tamanho de minha amostra, os dados de textura, aderência e outras características gonadais para as classes de tamanhos mais extremos foram obtidos de um número muito pequeno de tartarugas, não permitindo descartar a hipótese de serem variações individuais e não característica da espécie.

Não houve diferença na textura e aderência entre os dados coletados no momento da dissecação e após a fixação dos tecidos, o que viabiliza análise gonadal e estudos de desenvolvimento com base em material tombado em coleções científicas. Este dado é importante uma vez que trabalhos com animais encontrados mortos necessitam de um esforço muito grande para coleta de um número pequeno de espécimes. Soma-se a isto o fato de que os animais coletados precisam apresentar tecidos bem conservados. Como exemplo, este trabalho foi desenvolvido ao longo de 4 anos e não apresentou amostras suficientes para alguns tipos de teste quando separados em classes de tamanho.

WYNEKEN *et al.* (2007) utilizam como característica diagnóstica do sexo de tartarugas marinhas, a presença de ductos paramesonéfricos. A utilização desta técnica não é eficiente para tartarugas juvenis, pois estes ductos foram encontrados em praticamente todas as amostras por mim analisadas.

Para tartarugas-verdes do litoral paranaense a caracterização de 4 estágios de desenvolvimento gonadal foi estabelecida segundo critérios de GARCIA *et al.*, 1991, propostos para vertebrados em geral. Isto porque estudos específicos de histologia gonadal não foram realizados com animais juvenis e não foram suficientes para estabelecer um padrão para as espécies. Descrição de gônadas de tartarugas marinhas em diferentes estágios de maturação foram realizados somente com tartarugas filhotes, sub-adultas e adultas da espécie *Caretta caretta* utilizando para isto a técnica da laparoscopia. Nestes estudos foram estabelecidas fases de desenvolvimento segundo características gonadais externas como cor, textura e tamanho dos ovócitos, mas não foram propostas fases de desenvolvimento. (LIMPUS, 1990; WYNEKEN, *et al.*, 2007).

O desenvolvimento gonadal foi considerado concomitante com o crescimento da carapaça. A análise de regressão mostrou uma dependência de 86% sendo considerada alta. Isto significa que o crescimento da carapaça é um indicativo do desenvolvimento gonadal sendo os valores específicos para cada população (MENDONÇA, 1980; BALAZS E CHALOUPEK, 2004). Na amostra, tartarugas com maiores comprimentos de carapaça (acima de 50 centímetros) apresentaram formação inicial de grânulos no citoplasma. Este processo, que pode indicar uma vitelogênese inicial é pouco conhecido no grupo das tartarugas marinhas (HAMANN *et al.*, 2003) existindo uma forte ligação entre a produção e desenvolvimento os nutrientes e características ambientais das áreas de forrageio, como a temperatura (LIMPUS e NICHOLLS, 2000; CHALOUPEK, 2001).

O comprimento gonadal, parece não possuir qualquer relação com o comprimento de carapaça. Assim, o tamanho da gônada na população de *Chelonia mydas* no litoral paranaense não está relacionado com o estágio de desenvolvimento proposto neste estudo. Desta forma, fica evidente que o tamanho da gônada e seu estágio de desenvolvimento não apresentam relação, tendo sido encontradas gônadas de menor tamanho em estágios mais avançados de desenvolvimento e tudo isto pode estar relacionado à possível variabilidade genética existente dentro da população, mesmo considerando a provável origem comum de toda a amostra (BONDIOLI, *et al.*, 2007).

A determinação sexual que ocorre através da temperatura de incubação dos ovos, permitiu a implantação de numerosas técnicas de manejo que influenciam o número de nascimentos de machos e fêmeas. Estas técnicas podem interferir na caracterização populacional e são consideradas, por muitos autores, uma importante ferramenta na conservação de tartarugas marinhas (MROSOVSKY, 1994; GIRONDOT *et al.* 1998; MORTIMER e BRESSON, 1999). Considerando o pouco conhecimento a respeito do mecanismo de determinação sexual e suas implicações na ecologia reprodutiva das tartarugas marinhas, alguns programas desenvolvidos por longos anos em várias regiões do mundo foram abandonados e estudos sobre as consequências deste tipo de intervenção passaram a ser realizados (VOGT, 1994; MROSOVSKY e GODFREY, 1995; LOVICH, 1996). Sabe-se que aparentemente têm aumentado o número de juvenis nas populações, mas nenhum estudo de proporção sexual tem sido feito. Os estudos restringem-se a avaliação do manejo, particularmente do número de eclosões em ninhos transferidos (BELLINI *et al.*, 1991; BELLINI, 1993; GONCHROSKY

*et al.*, 1995; MARCOVALDI e D'AMATO, 1998). Estes estudos mostram que o manejo afeta a eclosão e mortalidade, entre outros fatores. Levando em consideração que a maior parte dos indivíduos que se alimentam na região do litoral paranaense tem origem em Ilhas oceânicas nas quais a interferência humana é quase nula, a proporção sexual encontrada na população juvenil provavelmente reflete o desenvolvimento de ninhos em condições naturais.

Todas as tartarugas-verdes amostradas no litoral do Paraná foram consideradas juvenis, sendo a região uma importante área de alimentação e desenvolvimento que abriga uma população equilibrada em termos de proporção sexual. Para esta amostra nenhum dos métodos reportados em literatura e testados neste estudo foram considerados eficientes na identificação de machos e fêmeas nesta fase de desenvolvimento. Apesar da amostra se apresentar insuficiente para realização de algumas relações, quando fragmentada em classes de tamanho, os resultados obtidos neste estudo são relevantes para o encaminhamento de futuros projetos envolvendo identificação de sexo e proporção sexual.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS (incluindo Prólogo)

ANDRIGUETTO-FILHO, J. M., 1993. Institutional prospects in managing coastal environmental conservation units in Paraná State, Brazil. Coastal Zone 93 (1). In: **Proceedings of Symposium of Coastal Ocean Management 1993**. American Society Civil Engineers, New Orleans.

ANGULO R. J., 1993. **Variações na configuração da linha de costa no Paraná nas últimas quatro décadas**. Boletim Paranaense de Geociências. 41: 52-72.

ANGULO R. J. e ARÁUJO A. D., 1996. **Classificação da costa paranaense com base na sua dinâmica, como subsídio à ocupação da orla litorânea**. Boletim Paranaense de Geociências. 44: 7-17.

ANGULO, R. J. 2000. **As praias do Paraná: problemas decorrentes de uma ocupação inadequada**. Revista Paranaense de Desenvolvimento, 99: 97-103.

BALAZS, G. H. e CHALOUPKA, M., 2004. **Spatial and temporal variability in somatic growth of green sea turtles (*Chelonia mydas*) resident in the Hawaiian Archipelago**. Marine Biology International Journal on Life in Oceans and Coastal Waters.

BARCELOS, C.; HENKE N., QUNTAS, M.; FERNANDES, L. 2003. **Complexo Estuarino De Paranaguá**: Estudo das características ambientais com auxílio de um sistema de informação geográfica. III Colóquio Brasileiro de Ciências Geodésicas.

BELLINI, C. e ALMEIDA, A. P.L.S. 1991. Análise comparativa da eclosão em ninhos de tartarugas marinhas transferidos e in situ, nas praias entre o Rio Doce e a Barra Seca, ES. In: Congresso Brasileiro de Zoologia, nº 18, 1991. Salvador. **Livro de Resumos**, pag. 333.

BELLINI, C. 1993. Comparação evolutiva do número de desovas por temporada reprodutiva, no Arquipélago de Fernando de Noronha (PE), entre 1984 e 1992. In: Reunião anual da sociedade brasileira para o progresso da ciência, nº 45, 1993, **Anais**, Recife: UFPE. Pág. 522.

BJORNDAL, K. A. 1997. Feeding ecology and nutrition in sea turtles. In: Lutz PL, Musick JA (eds) **The biology of sea turtles**, chap 8. CRC Marine Science Series, CRC Press, Boca Raton, Fla., pp 199–231.

BJORNDAL, K. A.; BOLTEN, A. B. e CHALOUPKA, M. Y. 2003. **Survival probability estimates for immature green turtles *Chelonia mydas* in the Bahamas**. Marine Ecology Progress Series, 252: 273-281.

BOLDRINI, E. B. 2007. Programa CAD: Contaminantes, Assoreamento e Dragagem no estuário de Paranaguá. In: BOLDRINI, E. B.; SOARES, C. R. e PAULA, E. V. (Orgs.). **Dragagens Portuárias no Brasil - Licenciamento e Monitoramento Ambiental**. SEMA/PR, Curitiba, PR, Brasil.

BJORNDAL, K. A.; BOLTEN, A. B. e TROENG, S. 2005. **Population structure and genetic diversity in green turtles nesting at Tortuguero, Costa Rica, based on mitochondrial DNA control region sequences**. Marine Biology, 147: 1449-1457.

BOLTEN, A. B.; BJORNDAL, K. A.; OWENS, D. W. e GRUMBLES, S. 1992. **Sex ratio and specific growth rates of immature green turtles, *Chelonia mydas*, in the Southern Bahamas**. Copeia, 4: 1098-1103.

BONDIOLI, A. C. V.; FERNANDES, F. M. C.; TOLEDO, L. F. A. **Estudo da composição genética de tartaruga verde (*Chelonia mydas*) da região de Cananéia, São Paulo**. In: JORNADA DE CONSERVACIÓN E INVESTIGACIÓN DE TORTUGAS MARINAS EN EL ATLÂNTICO SUR OCCIDENTAL. 3. 2007. Piriápolis, Uruguay. **Libro de Resumens**.

BOOTH, D. T. e ASTILL, K ., 2001. **Temperature variation within and between nests of the green sea turtle, *Chelonia mydas* (Chelonia: Cheloniidae) on Heron Island, Great Barrier Reef.** Australian Journal of Zoology, 49: 71–84.

BRODERICK, A. C.; GODLEY, B. J; REECE, S. e DOWNIE, J. R. 2000. **Incubation periods and sex ratios of green turtles:** highly female biased hatchling production in the eastern Mediterranean. Marine Ecology Progress Series. 202, 273-281.

BRODERICK, A. C.; GODLEY, B. J. e HAYS, G. C. 2001. **Metabolic heating and the prediction of sex ratio for green turtles (*Chelonia mydas*).** Physiological and Biochemical Zoology, 74: 61-170.

CASALE P.; LAZAR, B; PONT, S; TOMAS, J; ZIZZO, N; ALEGRE, S; BADILLO, J; DI SUMMA, A.; FREGGI, D.; LOCKOVIC, G.; RAGA, J. A.; ROSITANI, L e TVRTKOVIC, N. 2006. **Sex ratio of juvenile loggerhead sea turtles *Caretta caretta* in the Mediterranean Sea.** Marine Ecology Progress Series. 324: 281-285.

CHALOUPKA, M. Y, e MUSICK, J. A., 1997. Age, growth and population dynamics. In: Lutz PL, Musick JA (eds) **The biology of sea turtles**, chap 9. CRC Marine Science Series, CRC Press, Boca Raton, Fla., pp 233–276.

CHALOUPKA, M. Y. e LIMPUS, C. J. 2001. **Trends in the abundance of sea turtles resident in southern Great Barrier Reef waters.** Biological Conservation. 102:235–249.

CHARNIER, M. 1966. **Action de la température sur la sex ratio chez l'embryon d'*Agama agama* (Agamidae, Lacertilien).** Societ Biologic Ouest African, 160: 620-622.

CITES, 2008. **Convención sobre el comercio internacional de especies amenazadas de fauna y flora silvestres.** Disponível em: [www.cites.org/esp/index.shtml](http://www.cites.org/esp/index.shtml). Acessado em 05/06/2008.

COUTO, E. C. G., 1996. **Estrutura espaço-temporal da comunidade macrobêntica da planície intertidal o Saco do Limoeiro – Ilha do Mel (Paraná, Brasil).** Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná.

D'AMATO, A. F., 1991 **Ocorrência de tartarugas marinhas (Testudines: Cheloniidae, Dermochelyidae) no estado do Paraná (Brasil).** Acta Biológica Leopoldensia. 13 (2): 105-110.

D'AMATO A. F., 1992 **Ocorrência de *Lepidochelys olivacea* (Testudines: Cheloniidae) para o estado do Paraná – Brasil,** Acta Biológica Leopoldensia. 14 (1): 95-97.



DAVENPORT, J., 1997. **Temperature and the life history strategies of sea turtle.** Journal of Thermal Biological, 22 (6): 479-488.

DAY JR., J. W.; HALL, C. A. S.; KEMP, W. M.; YÁÑEZ- ARANCIBIA, A. **Estuarine Ecology.** New York: John Wiley, 1989. 558p.

DIEZ, C. E. e VAN DAM, R. P., 2003. **Sex ratio of an Immature hawksbill seaturtle aggregation at Mona Island, Puerto Rico.** Journal of Herpetology, 37 (3): 533-537.

DOMINGO, A.; BUGONI, L.; PROSDOCIMI, L.; MILLER, P.; LAPORTA, M.; MONTEIRO, D. S.; ESTRADES, A. e ALBAREDA, D., 2006. **The impact generated by fisheries on Sea Turtles in the Southwestern Atlantic,** WWF Programa marino para latinoamérica y el Caribe, San José, Costa Rica.

FITZSIMMONS, N. N.; LIMPUS, C. J.; NORMAN, J. A.; GOLDIZEN, A. R.; MILLER, J. D. e MORITZ, C. 1997. **Philopatry of male marine turtles inferred from mitochondrial DNA markers.** Proceedings National Academy of Science USA. 94: 8912-8917.

FRAZIER, J. 2003. Prehistoric and ancient historic interactions between humans and marine turtles. P. 1–38 In: P. L. Lutz, J. Musick, and J. Wyneken, editors. **The biology of sea turtles.** Volume II. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA. 2003. **Atlas da evolução dos remanescentes florestais e ecossistemas associados no domínio da Mata Atlântica no período 1995-2000.** São Paulo, SOS Mata Atlântica/INPE/ISA.

GARCIA, S.M. L.; JECKEL, E.; GARCIA, C. B. **Embriologia,** Editora Artes Médicas, 1991, Porto Alegre, RS, 350 p.

GIRONDOT, M.; FOUILLET, H. e PIEAU, C., 1998. **Feminizing turtle embryos as a conservation tool.** Conservation Biology. 12: 353-362.

GLEN, F. e MROSOVSKY, N. 2004. **Antigua revisited:** the impact of climate change on sand and nest temperatures at a hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) nesting beach. Global Change Biology, 10: 2036-2045.

GODFREY, M. H.; BARRETO, R. e MROSOVSKY, N. 1996. **Estimating past and present sex ratios of sea turtles in Suriname.** Canadian Journal of Zoology, 74: 267-277.

GODFREY, M.H.; D'AMATO, A.F.; MARCOVALDI, M.Â.; MROSOVSKY, N. Sex ratios of hatchling hawksbill turtles from Bahia, Brazil. 2000. In: **Proceedings of 19<sup>o</sup> Annual Symposium on sea turtle Conservation and biology, 2000**. Miami:U. S. Department of Commerce. pag.19. [NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-443].

GODLEY, B. J.; BRODERICK, A. C.; DOWNIE, J. R.; GLEN, F.; HOUGHTON, J. D.; KIRKWOOD, I.; REECE, S. e HAYS, G. C. 2001. **Thermal conditions in nests of loggerhead turtles**: further evidence suggesting female skewed sex ratios of hatchling production in the Mediterranean. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 263:45–63.

GODLEY, B. J.; BRODERICK, A. C.; GLEN, F. e HAYS, G. C. 2002. **Temperature-dependent sex determination of Ascension Island green turtles**. *Marine Ecology Progress Series*. 226, 115-124.

GODLEY, B. J.; LIMA, E. H. S. M.; AKESSON, S; BRODERICK, A. C.; GLEN, F.; GODFREY, M. H.; LUSCHI, P. e HAYS, G. C. 2003. **Movement patterns of green turtles in Brazilian coastal waters described by satellite tracking and flipper tagging**. *Marine Ecology Progress Series*, 253: 279-288.

GROSS, T. S.; CRAIN, D. A.; BJORNDALE, K. A.; BOLTON, A. T e CATHY, R. R. 1995. **Identification of sex in hatchling loggerhead turtles (*Caretta caretta*) by analysis of steroid concentrations in chorioallantoic/amniotic fluid**. *General and Comparative Endocrinology*. 99, 204-210.

GUEBERT, F. M.; ROSA, L.; LOPEZ, E. A.; DOMIT, C.; SASAKI, G. & MONTEIRO-FILHO, E. L. A. **Monitoramento de tartarugas marinhas no litoral do Estado do Paraná: uma ferramenta para gestão costeira**. In: JORNADA DE CONSERVACIÓN E INVESTIGACIÓN DE TORTUGAS MARINAS EN EL ATLÂNTICO SUR OCCIDENTAL. 3. 2007. Piriápolis, Uruguay. **Libro de Resumens**.

GUEBERT, F. M. 2008. **Ecologia alimentar e consumo de material inorgânico por tartarugas-verdes no litoral do Estado do Paraná**. 40 f. Dissertação (Mestrado em Zoologia). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

HAMANN, M.; LIMPUS, C. J. e OWENS, D. W. 2003, Reproductive cycles of males and females. pp. 135-161 In: **The Biology of Sea Turtles**. Volume II, (eds) P. L. Lutz, J. A. Muzick, & J. Wyneken, CRC Press, Boca Raton.

HAYS, G. C., GODLEY, B. J. e BRODERICK, A. C. 1999. Long-term thermal conditions on the nesting beaches of green turtles on Ascension Island. *Marine Ecology Progress Series*. 185, 297-299.

HOUGHTON, J.D.R. e HAYS, G.C., 2001. **Asynchronous emergence by loggerhead turtle (*Caretta caretta*) hatchlings**. *Naturwissenschaften*, 88: 133–136.

IPARDES, Fundação Edison Vieira. **Zoneamento do Litoral Paranaense**. Curitiba, 1989.

IUCN. 2007. **The 2007 IUCN Red List of Threatened Animals**. The IUCN Species Survival Commission, 2007. Disponível em: < <http://www.redlist.org> >. Acesso em: 1 de agosto de 2008.

JACKSON, J. B. C.; KIRBY, M. X.; BERGER, W.H.; BJORN DAL, K. A. BOTSFORD, L. W. 2001. **Historical overfishing and the recent collapse of coastal ecosystems**. *Science*. 293: 629-638.

JANZEN, F. J. & PAUKSTIS, G. L., 1991. **Environmental Sex Determination in Reptiles: Ecology, Evolution and Experimental Design**, *The quarterly review of biology*, 66 (2): 149-179.

KASKA, Y.; DOWNIE, R.; TIPPETT, R. e FURNESS R. W. 1998. **Natural temperature regimes for loggerhead and green turtle nests in the eastern Mediterranean**. *Canadian Journal of Zoology*, 76:723–729.

LAHANAS, P. N.; BJORN DAL, K. A.; BOLTEN, A. B.; ENCALADA, S. E.; MIYAMOTO, M. M.; VALVERDE, R. A. e BOWEN, B. W. 1998. **Genetic composition of a green turtle (*Chelonia mydas*) feeding ground population: evidence for multiple origins**. *Marine Biology*. 130: 345-352.

LAMOUR, M. R.; SOARES, C. R. & CARRILHO, J. C. 2004. **Mapas de parâmetros texturais de sedimentos de fundo do complexo estuarino de Paranaguá – PR**. *Boletim Paranaense de Geociências* 55: 77 – 82.

LANA. P. C.; MARONE, E.; LOPES, R. M.; MACHADO, E. C. 2001. The Subtropical Estuarine Complex of Paranaguá Bay, Brazil. P. 131-145. In: SEELIGER, U. & KJERFVE, B. (Eds). **Coastal Marine Ecosystems of Latin América**. Ecological Studies, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

LIMA, R. E. & NEGRELLE, R. R. B (organizadores). 1998. **Meio ambiente e desenvolvimento no Litoral do Paraná: diagnóstico**. Curitiba: Editora UFPR. 266 p.

LIMPUS, C. J. e WALTER, D. G., 1980. **The growth of immature green turtles (*Chelonia mydas*) under natural conditions**. Herpetologica. 36 (2): 162-165.

LIMPUS, C. J, 1985. **A study of the loggerhead sea turtle, *Caretta caretta*, in eastern Australlia**. Tese de Doutorado. Universidade de Queensland, Santa Lucia, Austrália.

LIMPUS, C. J. e REED, P. C., 1985. The Green turtle, *Chelonia mydas*, in Queensland: a preliminary description of the population structure in a coral reef feeding ground . p. 47-52. In: Grig, G., Shine, R. e Ehmann, H. (eds) **Biology of Australasian frogs and reptiles**. Royal zoological society of New South Wales: Sidney.

LIMPUS, C. J; MILLER, J. D. e REED, P. 1982. **Intersexuality in a loggerhead sea turtle, *Caretta caretta***. Herpetological Review, 13: 32-33.

LIMPUS, C. J. 1992. **The hawksbill turtle, *Eretmochelys imbricata*, in Queensland: Population structure within a southern Great Barrier Reef feeding ground**. Wildlife Research 19:489–506.

LIMPUS, C. J.; COUPER, P. J. e READ, M. A., 1994. **The loggerhead turtle, *Caretta caretta*, in Queensland: population structure in a warm temperate feeding area**. Memoriam of Queensland Museum. 37: 195-204.

LIMPUS, C. J. e NICHOLS, N., 2000. ENSO, regulation of Indo-Pacific Green turtle population. P. 399-408. In: Hammer, G., Nichols, N. e Mitchell, C. (eds) **Applications of seasonal climate forecasting in agricultural and natural ecosystems**. Kluwer Academic Publishers: Dordrecht.

LIMPUS, C. J. e LIMPUS, D. J. 2002. The Biology of the loggerhead, *Caretta caretta*, in southwest Pacific Ocean foraging areas. In: Whiterington B. e Bolten A. (eds). **Biology and conservation of the loggerhead turtles**. Smithsonian Institute Press, Washington, DC.

LOHMAN, K., WITHERINGTON, B. E., LOHMAN, C. e SALMON, M., 1996. Orientation, navigation and natal beach homing in sea turtles. p. 107-136. In: LUTZ, P. & MUSICK, J. A (Eds). **The biology of sea turtles**. CRC. Press, Boca Raton, FL, EUA.

LUTZ, P. L. **The biology of sea turtles**, CRC Press, vol. 1, New York, 1997.

LUTZ, P. L.; MUSICK, J. A.; WYNEKEN, J. **The biology of sea turtles**, CRC Press, vol. 2, Washington, 2003, 257 p.

MAACK, R. **Geografia física do Paraná**. Editora e Livraria José Olimpo, 1ª edição. Rio de Janeiro, 1981.

MARCOVALDI, M. Â e MARCOVALDI, G. G. D., 1987. **Projeto Tartaruga Marinha: áreas de desova, épocas de reprodução e técnicas de preservação**. Boletim FBCN, 22: 95-104.

MARCOVALDI, M. Â; GODFREY, M. H.; e MROSOVSKY, N., 1997. **Estimating sex ratios of loggerhead turtles in Brazil from pivotal incubation duration**. Canadian Journal of Zoology, 75: 755-770.

MARCOVALDI, M. Â; BAPTISTOTTE, C.; DE CASTILHOS, J. C.; GALLO, B. M. G.; LIMA, E. H. S. M.; SANCHES, T. M. e VIEITAS, C. F., 1998. **Activities by Projeto Tamar in Brazilian sea turtles feeding grounds**. Marine Turtle Newsletter, 80: 5-7.

MARCOVALDI, M. Â e MARCOVALDI, G. G. D., 1999. **Marine turtles of Brasil: the history and structure of Projeto TAMAR – IBAMA**. Biological Conservation, 91: 1-41.

MÁRQUEZ R. M., 1990. **FAO Species Catalogue: Sea turtles of the World**. FAO Fishery Synopsis, 11 (125): 1-81.

MCCOY, C. J.; VOGT, R. C. e CENSKY, E. J. 1983. **Temperature-controlled sex determination in the sea turtle *Lepidochelys olivacea***. Journal of Herpetology, 17: 404-406.

MENDONÇA, M. T., 1981. **Comparative growth rates of wild immature green turtle *Chelonia mydas* and *Caretta Caretta* in Florida**. Journal of Herpetology, 15 (4): 444 – 447.

MERCHANT-LARIOS, H. Determining hatchling sex. In: **Research and management techniques for de conservation of sea turtles**. Eckert, K. L. *et al.* Eds. IUCN/SSC Marine turtle specialist group publication. n° 4, 1999, 130-135.

MEYLAN, P. A.; DAVIS, K. e MEYLAN, A. B., 1994. Predicting sexual maturity of male green turtles from morphological characters. In: **Proceedings of 13º Annual**

**Symposium on sea turtle biology and conservation.** (NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-341).

MILLER, J. D., e LIMPUS C. J., 2003. Ontogeny of Marine Turtle Gonads. P. 199–224. In P. L. Lutz, J. A. Musick, and J. Wyneken (Eds.), **The Biology of Sea Turtles**, Volume II. CRC Press, Boca Raton, Florida, U.S.A.

MORTIMER, J. e BRESSON, R. 1999. **Temporal distribution and periodicity in hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) nesting at Cousin Island, Republic of Seychelles, 1971-1997.** Chelonian Conservation and Biology 3(2):318-325.

MROSOVSKY, N. e BENABIB, M. 1990. **Na assessment of two methods of sexing hatchling sea turtles.** Copéia 1990, 589-591.

MROSOVSKY, N., 1994. **Sex ratios of sea turtles.** Journal of Experimental Zoology. 270: 16–27.

MROSOVSKY, N e GODFREY, M. H. 1995. **Manipulating sex ratios: turtle speed ahead!** Chelonian Conservation Biology. 1: 238-240.

NETTO, S.A. e LANA, P.C., 1997. **Influence of *Spartina alterniflora* on superficial sediment characteristics of tidal flats in Paranaguá bay (South-eastern Brazil).** Estuarine, Coastal and Shelf Science, 44: 641-648.

NOERNBERG, M. A. 2001 **Processos morfodinâmicos no Complexo Estuarino de Paranaguá – Paraná – Brasil: Um estudo a partir de dados In situ e LANDSAT-TM.** Curitiba, 180 pag. Tese de Doutorado, UFPR.

OWENS, D. W. 1999. Reproductive cycles and endocrinology. P. 119–123. In K. L. Eckert, K. Bjorndal, F. A. Abreu-Grobois, and M. Donnelly (Eds.), **Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles.** IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication 4, Blanchard, Pennsylvania, U.S.A.

REES, A. F. e MARGARITOULIS, D., 2004. **Beach temperatures, incubation durations and estimated hatchling sex ratio for loggerhead sea turtle nests in southern Kyparissia bay, Greece.** Testudo, 6:23–36.

ROSA, L. 2005. **Biologia reprodutiva da tartaruga marinha *Chelonia mydas* no litoral paranaense**. 30 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

ROSTAL, D.C.; ALVARADO, J.; GRUMBLES, J. e OWENS, D.W., 1990. Observations on the reproductive biology of the black turtle *Chelonia agassizi* at Playa Colola, Michoacan, Mexico. In: Richardson TH, Richardson JI, Donnelly M (eds) **Proceedings of the Tenth Annual Workshop on Sea Turtle Biology and Conservation**. NOAA Technical Memorandum NMFSSEFC- 278, p 255–258.

SANCHES, T. M., 1999. **Avaliação e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da zona costeira e marinha**. Termo de referência nº 155/98: [www.bdt.org.br/workshop/costa/tartaruga/diagnostico](http://www.bdt.org.br/workshop/costa/tartaruga/diagnostico), acessado em 23/09/2004.

SANCHES, T. M. e BELLINI, C. 1999. **Juvenile *Eretmochelys imbricata* and *Chelonia mydas* in the Archipelago of Fernando de Noronha, Brazil**. Chelonian Conservation Biology, 3 (2): 308-311.

SORDO, L. N. 2008. **Alterações na estrutura e funcionamento de um banco de *Halodule wrightii* (Cymodoceaceae) durante um florescimento massivo de epífitas na Baía de Paranaguá (Paraná, Brasil)**. 73 f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Costeiros e Oceânicos). Universidade Federal do Paraná, Pontal do Paraná, PR, Brasil.

SPOTILA, J. R. 2004. **Sea turtles: a complete guide to their biology, behavior and conservation**. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, EUA. 228 p.

TAMAR, 2008. **Projeto TAMAR – Programa Brasileiro de Conservação das Tartarugas Marinhas/ ICMBio**. Disponível em < <http://www.tamar.org.br> >. Acesso em 3 de julho de 2008.

VALADEZ, C. G.; SILVA, F. De A. B.; VAZQUEZ, S. H. 2000. **Proporcion sexual en crias de la tortuga marina *Lepidochelys olivacea*, producida en corral de incubacion en la playa de anidacion La Gloria, Jalisco, México**. Boletín Del Centro de Investigación Biológica Universidad Del Zulia.,34 (3): 305 – 313.

VAN DER HEIDEN, A. M., BRISENO-DUENAS, R. e RIOS-OLMEDA, D. A. 1985. **A simplified method for determining sex in hatchling sea turtles**. Copeia, 1985, 779-782.

VOGT, R. C. 1994. **Temperature controlled sex determination as a tool for turtle conservation.** Chelonian Conservation Biology, 1: 159-162.

WIBBELS, T.; BULL, J.J. e CREWS, D. 1994. **Temperature-dependen sex determination:** a mechanistic approach. Journal of Experimental Zoology. 270: 71-78.

WIBBELS, T.; ROSTAL, D. C. e BYLES, R. 1998. **High pivotal temperature in the sex determination of the olive Ridley sea turtle from Playa Nancite, Costa Rica.** Copeia 1998, 1086-1088.

WIBBELS, T. R.; OWENS, D. W. e LIMPUS C. J., 2000. **Sexing juvenile sea turtles: is there an accurate and practical method?** Chelonian Conservation and Biology 3:756–761.

WINEKEN, J.; EPPERLY, S. P.; CROWDER, L. B.; VAUGHAN, J. & ESPER, K. B. 2007. **Determining sex in posthatchling loggerhead sea turtles using multiple gonadal and accessory duct characteristics.** Herpetologica, 63 (1): 19 – 30.

WITZELL, W. N., 1983. **Synopsis of biological data on the hawksbill turtle, *Eretmochelys imbricata* (Linnaeus, 1766).** FAO Fisheries Synopsis, Rome, N° 137.

WITZELL, W. N.; GEIS, A. A.; SCHMID, J. R. e WIBBELS, T., 2005. **Sex ratio of immature Kemp's ridley turtles (*Lepidochelys kemp*) from Gullivan Bay, Tem Thousand Island, south-west Florida.** Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom, 85: 205-208.

WOOD, J. R.; WOOD, F. E.; CRITCHLEY, K. H.; WILDT, D. E. e BUSH, M. 1983. **Laparoscopy of the green sea turtle,** British Journal Herpetological, 6: 323-327.

YNTEMA, C. L. e MROSOVSKY, N., 1980. Temperature dependence of sexual differentiation in sea turtles: implications for conservation practices. Biological Conservation 18: 271-280.

ZUG, G. R. e GLOR, R. E., 1998. **Estimates of age and growth in a population of green sea turtles (*Chelonia mydas*) from the Indian River lagoon system, Florida:** a skeletochronological analysis. Canadian Journal of Zoology, 76: 1497 – 1506.

ZUG, G. R.; BALAZS, G. H.; WETHERALL, J. A.; PARKER, D. M. e MURAKAWA, S. K. K. 2002. **Age and growth in Hawaiian green sea turtles (*Chelonia mydas*):** an analysis based on skeletochronology. Fishery Bulletin, Washington, DC, 100:117–127.



## **CAPÍTULO 2: Morfometria de tartarugas-verdes, *Chelonia mydas*, no litoral do Estado do Paraná: testando o potencial dimorfismo.**

### **RESUMO**

A falta de ferramentas acessíveis na identificação externa dos sexos de tartarugas marinhas na fase juvenil inibe estudos de identificação da razão sexual, parâmetro que é de grande importância para que os esforços de conservação sejam mais eficazes. Desta forma, o objetivo deste estudo foi tentar identificar, através de características sexuais secundárias conhecidas na fase adulta das tartarugas marinhas, diferenças entre machos e fêmeas ainda na fase juvenil. A amostra total utilizada foi composta por 127 tartarugas-verdes juvenis cujos sexos foram identificados através da análise histológica das gônadas, sendo encontrados 65 fêmeas e 62 machos. Foram retiradas medidas de comprimento, largura e a razão entre o comprimento e a largura da carapaça, estruturas das unhas das nadadeiras anteriores e caudas, sendo testadas diferenças entre as médias totais e entre classes de tamanho variando em 5 cm cada. A maioria dos parâmetros mensurados não apresentou diferença significativa entre machos e fêmeas deixando de ser um bom critério de identificação sexual. O comprimento curvilíneo médio de carapaça foi de 39,3' ( $\pm 6,38$ ) não havendo diferença significativa entre machos e fêmeas. A separação entre machos e fêmeas foi considerada efetiva levando-se em consideração as larguras da estrutura córnea exposta nas unhas das nadadeiras anteriores, na relação entre os comprimentos totais e cloacais das caudas de tartarugas-verdes e na relação entre comprimento e largura da primeira vértebra caudal. A variação foi percebida, nas classes de tamanho entre 30, 5 e 40 centímetros no caso das unhas, entre 30,5 e 35 centímetros no caso da razão de comprimento caudal e entre 40, 5 e 45 centímetros no caso da razão entre comprimento e largura vertebrais. Através da análise discriminante foi possível verificar a efetividade dos parâmetros na identificação sexual o que pode potencializar estudos de dimorfismo sexual baseados em caracteres morfológicos de juvenis, particularmente a utilização de coleções científicas.

**Palavras-chave:** característica sexual secundária, medidas, unhas e caudas.

## ABSTRACT

The lack of tools available on the external identification of gender of sea turtles in the juvenile phase inhibits studies for identifying the sex ratio, a parameter that is of great importance to conservation efforts. Thus, the objective of this study was to try to identify, through secondary sexual characteristics known in adult sea turtles, differences between males and females still in juvenile stage. The total sample used was composed of 127 green turtles, juvenile whose sex was identified by histological analysis of gonads: 65 females and 62 males. Measures were taken of length, width and ratio between the length and width of the carapace, structures of claw in the flippers and tails and tested differences between mean total and between classes ranging in size from 5 cm each. Most measured parameters showed no significant difference between males and females being no longer a good criterion for identifying sex. The mean curve carapace length was 39.3 ( $\pm$  6.38) with no significant difference between males and females. The split between males and females was considered effective taking into account the widths of the cornea structure of the flippers' claw, the relationship between total and cloacal length of the tail of the green turtles and the relationship between length and width of the first tail vertebra. The variation was seen in class size of 30,5 and 40 cm in the case of claws, between 30,5 and 35 cm for the tail length and between 40, 5 and 45 centimeters ration between length and vertebral width. Through discriminant analysis it was possible to verify the effectiveness of the parameters in sexual identification which can enhance studies of sexual dimorphism based on morphological characters of juveniles, particularly the use of scientific collections.

**Key words:** secondary sexual characteristics, measurements, claws e tails.

## 1. INTRODUÇÃO

A percepção das variações morfológicas ao longo da evolução e do desenvolvimento dos organismos foi acompanhada pela quantidade dos processos físicos relacionados, os quais podem ser descritos matematicamente. A partir da década de 1980 a morfometria passou por uma revisão e descrição metodológica criando-se uma área específica envolvendo biologia, estatística e geometria (MONTEIRO e REIS, 1999). Análises qualitativas e quantitativas relacionando variações morfológicas a fatores e padrões biológicos específicos em diferentes espécies, vêm se intensificando nas últimas décadas (LANDE e ARNOLD, 1983; SCHLUTER, 1996; ZANI, 2000).

O recente desenvolvimento e aprimoramento de ferramentas morfométricas representam um grande avanço nos estudos de variação morfológica (CLAUDE *et al.*, 2004). A morfometria vem há muitos anos sustentando estudos que envolvem diferentes características estruturais relacionadas com diferentes fatores, uma vez que estes elementos não se desenvolvem independentemente (SCHLUTER, 2000).

As seleções natural e sexual são vistas como de grande importância nas definições de padrões morfológicos, em especial a forma e tamanho dos indivíduos (MYERS *et al.*, 2006). Estudos utilizando morfometria em tartarugas marinhas têm somente procurado relacionar variações anatômicas das estruturas ósseas ao hábitat e dieta (CLAUDE, *et al.*, 2004; DEPECKER, 2006). A dificuldade na determinação sexual com base em características morfológicas (GODLEY *et al.*, 2002) associada a ausência de cromossomos sexuais, inibe a realização de estudos de identificação sexual e análises da proporção sexual em populações de tartarugas marinhas juvenis. Somente quando chegam à fase adulta é que características sexuais secundárias se desenvolvem, tornando-se evidente o sexo do indivíduo (BERRY e SHINE, 1980; WYNEKEN *et al.*, 2007). Nesta fase, as tartarugas marinhas desenvolvem algumas características sexuais secundárias que permitem diferenciar externamente machos de fêmeas. Os machos possuem nas nadadeiras anteriores unhas maiores e mais curvadas (WYNEKEN, 2003), cauda preênsil bem pronunciada com cloaca terminal (BOLTEN *et al.*, 1992; WYNEKEN, 2003; WYNEKEN *et al.*, 2007) e maleabilidade no plastrão durante o período reprodutivo. (HENDRICKSON, 1958; WIBBELS *et al.*, 1991).

Ainda relacionado a estas variações morfológicas, MILLER (1989) relata que os machos apresentam carapaça mais alongada que as fêmeas em estudos desenvolvidos predominantemente com tartarugas sub-adultas e adultas. Há também

autores que sugerem um dimorfismo sexual relativo ao tamanho dos animais, no qual os machos tendem a ser menores do que as fêmeas (BERRY e SHINE, 1980; GODLEY *et al.*, 2002) e a crescerem mais lentamente (CHALOUPKA e LIMPUS, 1997; CHALOUPKA *et al.*, 2004).

Por não apresentarem dimorfismo aparente, algumas técnicas foram desenvolvidas para identificar o sexo dos indivíduos jovens nas populações de tartarugas marinhas. Dentre as técnicas utilizadas estão a análise de temperatura de incubação dos ovos, a laparoscopia, a ultrassonografia, a histologia e a análise sorológica. Entretanto, método de identificação sexual mais eficaz para tartarugas marinhas imaturas é a análise histológica (YNTEMA e MROSOVSKY, 1980; MROSOVSKY e BENABIB, 1990; MROSOVSKY e GODFREY, 1995; MERCHANT-LARIOS, 1999; WIBBELS, 2003; WYNEKEN *et al.*, 2007; esta dissertação, capítulo 1).

Associado à dificuldade de identificação sexual dos indivíduos está a irregularidade no crescimento e determinação segura de indicativos externos de maturidade, pois o crescimento em répteis também está associado a diferentes fatores ambientais (FRAZER e EHRHART, 1985; LIMPUS e WALTER, 1980 e POUGH, 1993). Estudos recentes sugerem que a relação direta entre tamanho do animal e seu estágio de desenvolvimento existe, sendo específica para cada população (BALAZS e CHALOUPKA, 2004). COLAZZO *et al.* (1992) analisando o comprimento curvilíneo de carapaças de tartarugas-verdes consideraram juvenis os indivíduos com até 50 cm de comprimento, pois a partir deste tamanho as tartarugas já começam a entrar em maturação sexual o que as caracteriza como adultas em termos de desenvolvimento gonadal. ZUG e GLOR (1998), estudando a mesma espécie através da análise esqueleto cronológica utilizando critério de maturação óssea para identificar animais jovens, consideram juvenis os indivíduos de até 75 cm de carapaça. BALAZS e CHALOUPKA (2004) estudaram diferentes populações de tartarugas-verdes no mundo e concluíram que o tamanho mínimo de comprimento de carapaça para o início de maturação sexual é 80 cm. A dificuldade em se estabelecer um padrão vem da grande diferença de crescimento dos indivíduos. MENDONÇA (1981) encontrou em alguns estudos, uma diferença de crescimento variando de 0.96 a 19 cm ao ano para *Chelonia mydas*. Nenhum destes estudos contemplou as variações no surgimento de características sexuais secundárias, um importante indicativo de maturidade (WYNEKEN, 2003).

Neste contexto, o reconhecimento de uma ferramenta mais acessível na identificação dos sexos, particularmente na fase juvenil, permitirá a determinação da razão sexual, parâmetro que é de grande importância para que os esforços de conservação sejam mais eficazes. Desta forma, este estudo tem por objetivo a tentativa de identificação, através de características sexuais secundárias conhecidas na fase adulta das tartarugas marinhas, diferenças entre machos e fêmeas ainda na fase juvenil.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Área de Estudo**

O litoral paranaense apresenta uma extensão de 98 quilômetros sendo o segundo menor litoral brasileiro. É formado por um conjunto de estuários constituindo uma costa bem recortada (ANGULO, 1993) e por uma planície costeira com cordões litorâneos, recebendo direta e indiretamente a influência do Oceano Atlântico (IPARDES, 1989). Abriga uma série de ecossistemas naturais preservados ou pouco modificados (LIMA e NEGRELLE, 1998; DAY *et al.*, 1989) com áreas de formações pioneiras que compreende uma rica diversidade de habitats como manguezais, marismas e restingas bem desenvolvidos, além de bancos de gramas marinhas, costões rochosos e baixios de maré (NETTO e LANA, 1997). Estes ambientes são considerados como de extrema importância para conservação de diferentes espécies que utilizam a área para reprodução ou desenvolvimento (LANA *et al.*, 2001).

Dois sistemas estuarinos caracterizam o litoral, o Complexo Estuarino de Paranaguá (25°30' S e 48°40' W) e o Estuário de Guaratuba (25°50' S e 48°40'W).

Para maiores informações sobre a área de estudo, ver capítulo 1.

## 2.2. Procedimentos

As tartarugas-verdes utilizadas neste estudo foram obtidas no período de abril de 2004 a novembro de 2008 com base no monitoramento das praias do Litoral e do Complexo Estuarino de Paranaguá ou encaminhadas pela comunidade e órgãos gestores de outras localidades do litoral.

O animal coletado foi identificado e as medidas básicas de tamanho (comprimento e largura curvilínea de carapaça) foram registradas. Todas as tartarugas foram consideradas juvenis com base na histologia das gônadas (Capítulo 1). As classes de tamanho foram definidas pelo comprimento e largura máximos de carapaça totalizando 6 classes de tamanho com intervalo de 5 cm cada, variando entre 25,5 e 55 cm. Para as análises foram consideradas 3 classes de tamanho sendo descartados os intervalos de 25,5 a 30 e 45 a 55 cm por apresentarem menos de 5 indivíduos e/ou somente amostra de um dos sexos.

Após estes procedimentos, os animais foram dissecados a partir da parte ventral (plastrão). As gônadas foram retiradas e a identificação do sexo foi realizada com base em análises histológicas (Capítulo 1). Durante o processo de dissecação foram coletadas, além das gônadas, as nadadeiras anteriores e a cauda.

As duas nadadeiras peitorais foram utilizadas para mensuração das unhas com auxílio de paquímetro (FIGURA 1). Algumas medidas foram tomadas no momento da dissecação (denominadas “externas”) e, em seguida, as unhas foram retiradas juntamente com a falange mais distal sendo submetidas à maceração para separação das estruturas córneas e ósseas. De forma geral foram utilizadas 2 medidas distintas das unhas (externa e óssea): comprimento máximo e largura máxima, além da razão entre o comprimento e largura máximos. Estas medidas foram obtidas das estruturas córneas expostas (no momento da dissecação), da estrutura córnea dissecada e da falange mais distal do dígito. Com os parâmetros mensurados nas unhas foi realizada análise de variância (ANOVA) com a finalidade de testar diferença entre os lados direito e esquerdo.

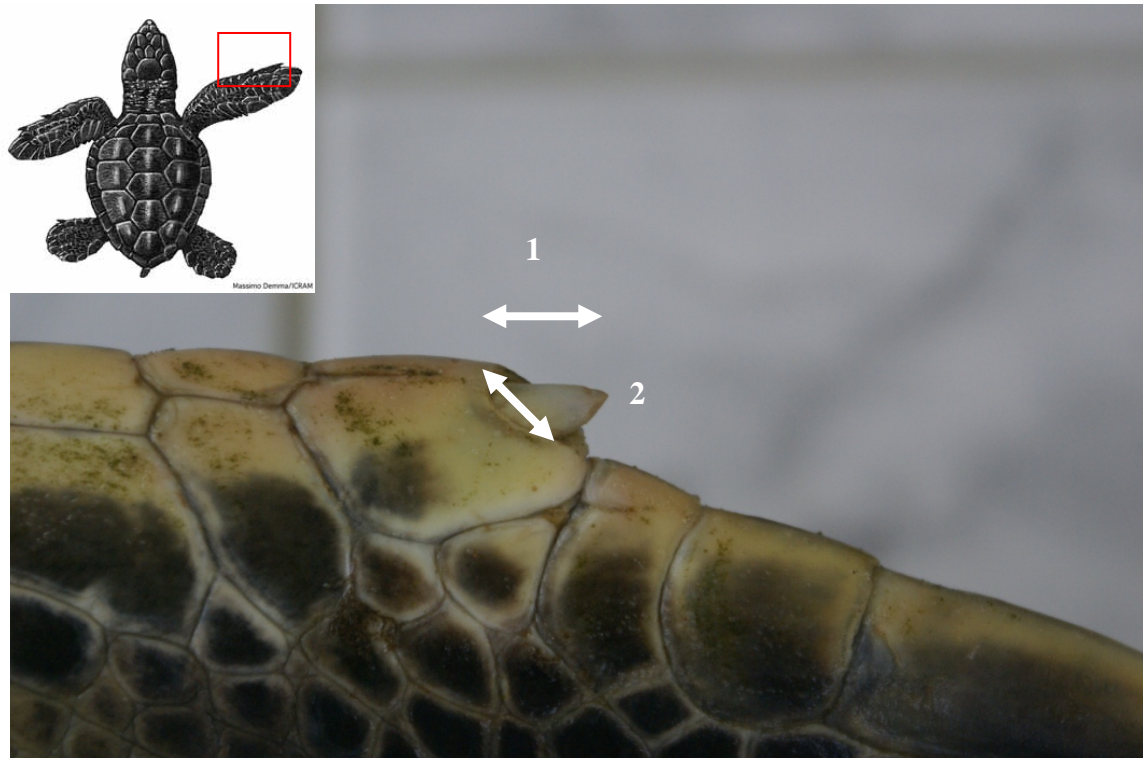


FIGURA 1: Medidas de comprimento (1) e largura (2) das unhas das nadadeiras anteriores de tartarugas-verdes juvenis coletadas no litoral paranaense.

Foram coletados os comprimentos externos da cauda no eixo longitudinal, a partir do plastrão e a partir da cloaca (FIGURA 2). Em seguida foi calculada a relação entre as distâncias, tendo em vista que machos apresentam cauda com cloaca terminal (BOLTEN *et al.*, 1992; WYNEKEN, 2003; WYNEKEN *et al.*, 2007).

Posteriormente, as caudas foram retiradas a partir da cintura pélvica e maceradas em água para obtenção somente da estrutura óssea. Foram mensurados comprimento e largura máximos das três primeiras vértebras caudais (FIGURA 3), bem como calculada a razão entre comprimento e largura de cada uma delas.

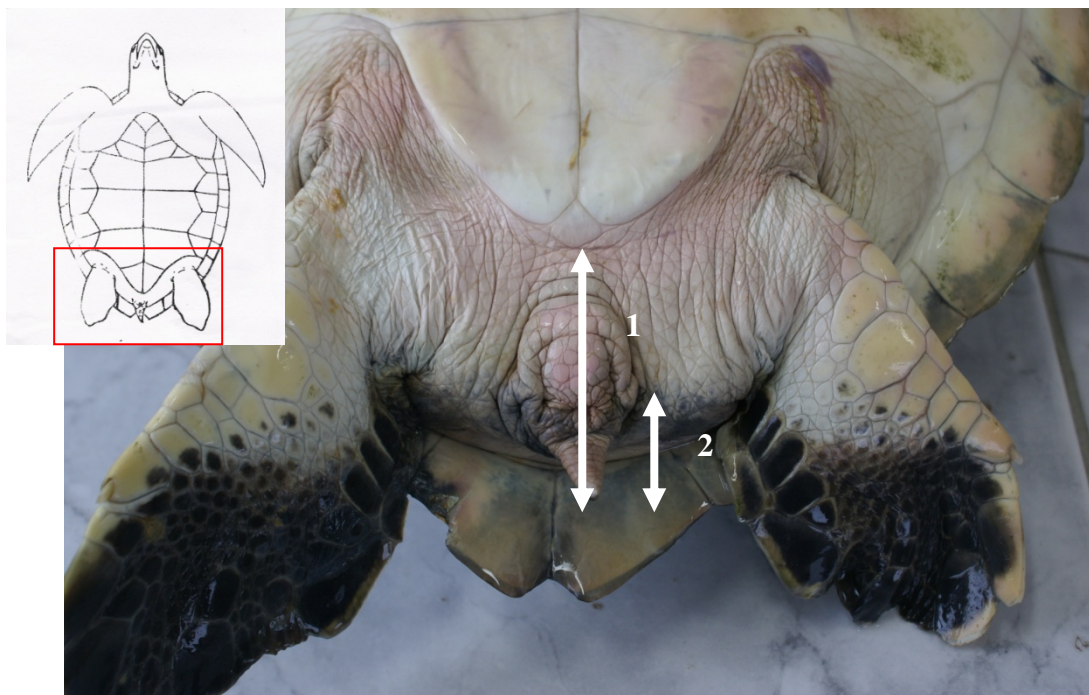


FIGURA 2: Medidas caudais coletadas de tartarugas-verdes sendo (1) o comprimento total da cauda a partir do plastrão e (2) o comprimento da cauda a partir da cloaca.

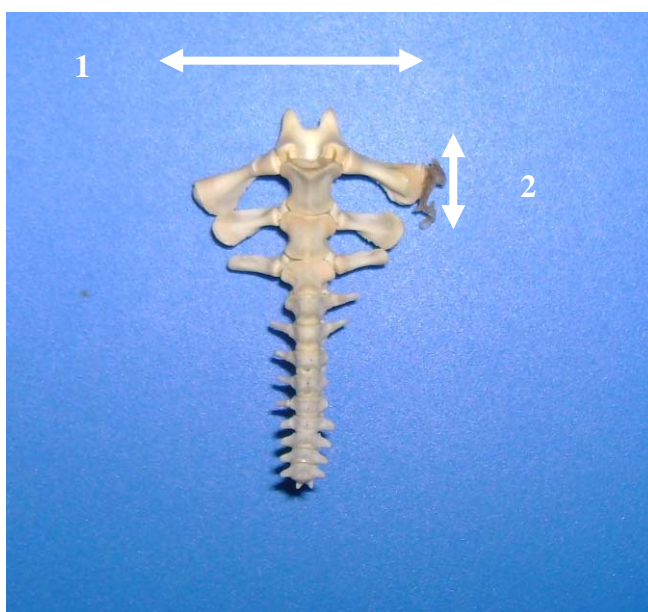


FIGURA 3: Vértex caudais de tartarugas-verdes juvenis coletadas no litoral paranaense, sendo as medidas de comprimento (1) e largura (2) obtidas das três primeiras vértebras (sacrais).



Foi testada a diferença entre as médias das medidas de comprimento e largura curvilíneos de carapaça de machos e fêmeas utilizando-se teste T. Associado, foram testadas as razões do comprimento pela largura e da largura pelo comprimento em virtude do dimorfismo proposto por MILLER (1989), no qual os machos apresentam carapaça mais alongada que as fêmeas. Em seguida, a diferença entre machos e fêmeas foi testada nas diferentes classes de tamanho descritas anteriormente através das médias obtidas por classe (teste T).

Novamente foi utilizado teste T para as médias das medidas de comprimento, largura e a razão do comprimento pela largura de unhas, cauda, vértebras caudais e seus processos, bem como os mesmos parâmetros em classes de tamanho (comprimento curvilíneo de carapaça) em busca de um eventual dimorfismo sexual. Para as medidas que apresentaram diferenças significativas foi realizada análise discriminante (*GDA – General Discriminant Analysis*) com a finalidade de testar a validade do parâmetro na identificação de machos e fêmeas. As análises foram realizadas com o auxílio do programa Statistica 7.0.

### 3. RESULTADOS

A amostra total utilizada foi composta por 127 tartarugas-verdes juvenis cujos sexos foram identificados, sendo encontrados 65 fêmeas e 62 machos. Os comprimentos curvilíneos máximos de carapaça variaram entre 27,5 a 68 cm, com média aproximada de 39,3 ( $\pm 6,38$ ) sendo todos considerados juvenis (ver Capítulo 1).

As médias de comprimento curvilíneo de carapaça foram de 39,9 ( $\pm 6,14$ ) para fêmeas e de 38,6 ( $\pm 6,60$ ) para machos, não havendo diferença significativa entre os dois grupos ( $t= 1,15$ ;  $p=0,249$ ).

Foram calculadas as razões entre comprimento e largura de carapaça com a finalidade de testar o dimorfismo proposto por MILLER (1989). Para fêmeas a média foi de 1,097 ( $\pm 0,044$ ) e para os machos de 1,096 ( $\pm 0,039$ ) não havendo também diferença significativa entre machos e fêmeas ( $t= 0,20$ ;  $p=0,241$ ). Em adição foi testada diferença nas razões entre largura e comprimento de carapaça e não foi encontrada diferença significativa ( $t= 0,15$ ;  $p= 0,875$ ).

Foi testada a diferença entre os comprimentos curvilíneos e a relação entre o comprimento e a largura de carapaça de machos e fêmeas em três classes de comprimento havendo diferença significativa entre os comprimentos curvilíneos de

carapaça na classe de 40,5 a 45 centímetros (TABELA 1). Posteriormente os dados foram submetidos a uma análise discriminante (GDA), confirmando a separação dos grupos (Wilks lambda= 0,7355;  $F_{\text{aprox.}} = 7,90$ ;  $p < 0,010$ ).

TABELA 1: Testes de significância (valores de t e respectivo p valor) da diferença entre sexos para médias de Comprimento Curvilíneo de Carapaça (CCC) e a razão entre o Comprimento e a Largura em três classes de tamanho propostas para *Chelonia mydas* coletadas no litoral paranaense (\* = diferença significativa).

Classes de tamanho	n	Média do Comprimento Curvilíneo da Carapaça		Média do Comprimento pela Largura Curvilínea da Carapaça (p)	
		Média e desvio padrão	t (p)	Média e desvio padrão	t (p)
30,5 - 35	30	33,28 ( $\pm 1,27$ )	0,96 (0,345)	1,09 ( $\pm 0,03$ )	1,04 (0,305)
35,5 - 40	54	37,69 ( $\pm 1,48$ )	0,33 (0,736)	1,10 ( $\pm 0,04$ )	0,26 (0,791)
40,5 - 45	24	43,1 ( $\pm 1,38$ )	2,81 (0,010) *	1,09 ( $\pm 0,03$ )	0,55 (0,584)

Foram coletadas 60 nadadeiras de tartarugas verdes sendo mensuradas as unhas dos lados direito e esquerdo. Neste grupo amostral, foram identificadas 28 fêmeas e 32 machos. Os dados foram submetidos a uma ANOVA com a finalidade de testar diferença entre os lados direito e esquerdo para os comprimentos externos das unhas ( $F = 0,638$ ;  $p = 0,593$ ), comprimento córneo ( $F = 0,772$ ,  $p = 0,468$ ) e comprimento ósseo ( $F = 0,728$ ,  $p = 0,488$ ) não tendo sido detectadas diferenças. Desta forma, o lado direito foi adotado como padrão para realização dos demais testes.

Após atestar a normalidade dos dados, foi testada diferença entre machos e fêmeas com relação às médias dos comprimentos, larguras e razão do comprimento pela largura nas estruturas externas, córneas e ósseas (TABELA 2), sendo detectada diferença significativa entre machos e fêmeas com relação à largura máxima externa. Porém, não foi possível separar os grupos com a análise discriminante (Wilks lambda= 0,96;  $F_{\text{aprox.}} = 1,99$ ;  $p < 0,163$ ).

TABELA 2: Testes de significância (valores de t e respectivo p valor) da diferença entre sexos para amostras de comprimento, largura e razão do comprimento pela largura de estruturas externa, córnea e óssea das unhas de *Chelonia mydas* coletadas no litoral paranaense (\* = diferença significativa).

<b>Parâmetros mensurados</b>	<b>n</b>	<b>Média para Fêmeas</b>	<b>n</b>	<b>Média para Machos</b>	<b>t (p)</b>
<i>Comprimento ( C )</i>					
Externo	24	9,99 (± 1,62)	29	9,35 (± 0,82)	1,90 (0,062)
Córneo	21	16,09 (± 2,58)	27	15,79 (± 1,78)	0,12 (0,900)
Ósseo	22	16,81 (± 2,82)	30	16,13 (± 1,38)	1,17 (0,244)
<i>Largura ( L )</i>					
Externo	22	4,83 (± 0,87)	30	4,45 (± 0,48)	2,09 (0,002) *
Córneo	21	6,73 (± 1,03)	27	6,58 (± 0,73)	0,36 (0,719)
Ósseo	22	6,26 (± 0,96)	30	6,05 (± 0,55)	1,06 (0,290)
<i>Razão C/L</i>					
Externo	22	2,09 (± 0,27)	29	2,12 (± 0,26)	0,46 (0,644)
Córneo	21	2,41 (± 0,26)	27	2,39 (± 0,22)	1,04 (0,302)
Ósseo	22	2,68 (± 0,19)	30	2,67 (± 0,17)	0,18 (0,854)

As medidas de comprimento (TABELA 3), largura (TABELA 4) e razão do comprimento pela largura (TABELA 5) destas estruturas anatômicas foram utilizadas para testar diferença entre as médias de machos e fêmeas nas classes de tamanho. Novamente, foram observadas 3 classes de tamanho e diferenças significativas foram detectadas somente para larguras das estruturas externas nas classes de comprimento de carapaça 30,5 a 35 e 35,5 a 40 cm. Na classe de comprimento de carapaça 30,5 a 35 é possível separar machos de fêmeas, sendo esta determinação suportada pela análise discriminante (Wilks lambda= 0,64;  $F_{\text{aprox.}} = 7,27$ ;  $p < 0,0183$ ), não sendo possível na classe de 35,5 a 40 cm (Wilks lambda= 0,84;  $F_{\text{aprox.}} = 4,16$ ;  $p < 0,053$ ).

TABELA 3: Testes de significância (valores de t e respectivo p valor) da diferença entre sexos em três classes de tamanho distintas para amostras de comprimentos externo, córneo e ósseo das nadadeiras de tartarugas-verdes coletadas no litoral paranaense.

<b>Parâmetros mensurados</b>	<b>n</b>	<b>Média para Fêmeas</b>	<b>n</b>	<b>Média para Machos</b>	<b>t (p)</b>
<i>Comprimento Externo</i>					
30,5 - 35	5	8,42 ( $\pm$ 0,89)	10	8,86 ( $\pm$ 1,02)	0,77 (0,449)
35,5 - 40	12	9,80 ( $\pm$ 0,95)	14	9,51 ( $\pm$ 0,61)	0,96 (0,346)
40,5 - 45	5	11,08 ( $\pm$ 1,19)	5	9,91 ( $\pm$ 0,57)	1,97 (0,084)
<i>Comprimento Córneo</i>					
30,5 - 35	5	13,67 ( $\pm$ 2,36)	9	13,92 ( $\pm$ 1,18)	0,26 (0,794)
35,5 - 40	11	16,09 ( $\pm$ 1,02)	12	16,40 ( $\pm$ 1,15)	0,68 (0,502)
40,5 - 45	4	17,84 ( $\pm$ 0,75)	6	17,40 ( $\pm$ 1,06)	0,71 (0,495)
<i>Comprimento Ósseo</i>					
30,5 - 35	5	13,85 ( $\pm$ 1,79)	10	14,75 ( $\pm$ 0,53)	1,65 (0,122)
35,5 - 40	12	16,31 ( $\pm$ 0,70)	14	16,34 ( $\pm$ 0,89)	0,09 (0,925)
40,5 - 45	5	18,89 ( $\pm$ 1,01)	6	17,92 ( $\pm$ 0,84)	1,73 (0,117)

TABELA 4: Testes de significância (valores de t e respectivo p valor) da diferença entre sexos em três classes de tamanho distintas para amostras de largura externa, córnea e óssea das nadadeiras de tartarugas-verdes coletadas no litoral paranaense (\* = diferença significativa).

<b>Parâmetros mensurados</b>	<b>n</b>	<b>Média para Fêmeas</b>	<b>n</b>	<b>Média para Machos</b>	<b>t (p)</b>
<i>Largura Externa</i>					
30,5 - 35	5	3,91 ( $\pm$ 0,42)	10	4,56 ( $\pm$ 0,45)	2,69 (0,018) *
35,5 - 40	12	4,79 ( $\pm$ 0,56)	14	4,33 ( $\pm$ 0,55)	2,11 (0,045) *
40,5 - 45	5	5,18 ( $\pm$ 0,71)	6	4,52 ( $\pm$ 0,33)	2,01 (0,074)
<i>Largura Córnea</i>					
30,5 - 35	5	5,78 ( $\pm$ 0,36)	9	5,90, ( $\pm$ 0,51)	0,46 (0,650)
35,5 - 40	11	6,71 ( $\pm$ 0,75)	12	6,61 ( $\pm$ 0,40)	0,40 (0,686)
40,5 - 45	5	7,31 ( $\pm$ 0,62)	6	7,52 ( $\pm$ 0,34)	0,69 (0,504)
<i>Largura Óssea</i>					
30,5 - 35	5	5,30 ( $\pm$ 0,27)	10	5,53 ( $\pm$ 0,33)	1,35 (0,199)
35,5 - 40	12	6,08 ( $\pm$ 0,44)	14	6,07 ( $\pm$ 0,29)	0,10 (0,917)
40,5 - 45	5	7,00 ( $\pm$ 0,45)	6	6,85 ( $\pm$ 0,21)	0,72 (0,489)

TABELA 5: Testes de significância (valores de t e respectivo p valor) da diferença entre sexos em três classes de tamanho distintas para amostras da razão do comprimento pela largura (C/L) externa, córnea e óssea das nadadeiras de tartarugas-verdes coletadas no litoral paranaense (\* = diferença significativa).

<b>Parâmetros mensurados</b>	<b>n</b>	<b>Média para Fêmeas</b>	<b>n</b>	<b>Média para Machos</b>	<b>t (p)</b>
<i>Razão C/L Externa</i>					
30,5 - 35	5	2,17 ( $\pm$ 0,33)	10	1,95 ( $\pm$ 0,27)	1,31 (0,212)
35,5 - 40	12	2,05 ( $\pm$ 0,22)	14	2,21 ( $\pm$ 0,24)	1,71 (0,099)
40,5 - 45	5	2,16 ( $\pm$ 0,29)	6	2,18 (0,19)	0,14 (0,887)
<i>Razão C/L Córnea</i>					
30,5 - 35	5	2,35 ( $\pm$ 0,29)	9	2,34 ( $\pm$ 0,19)	0,08 (0,936)
35,5 - 40	11	2,41 ( $\pm$ 0,28)	14	2,46 ( $\pm$ 0,24)	0,41 (0,684)
40,5 - 45	5	2,48 ( $\pm$ 0,25)	6	2,31 ( $\pm$ 0,20)	1,21 (0,256)
<i>Razão C/L Óssea</i>					
30,5 - 35	5	2,61 ( $\pm$ 0,26)	10	2,67 ( $\pm$ 0,12)	0,59 (0,563)
35,5 - 40	12	2,68 ( $\pm$ 0,15)	14	2,69 ( $\pm$ 0,21)	0,13 (0,892)
40,5 - 45	5	2,70 ( $\pm$ 0,21)	6	2,61 ( $\pm$ 0,14)	0,79 (0,447)

Para as análises de comprimento das caudas (comprimentos externos) foram utilizadas 47 amostras de fêmeas e 68 de machos, não sendo detectadas diferenças entre as médias obtidas a partir de machos e fêmeas (TABELA 6).

TABELA 6: Testes de significância (valores de t e respectivo p valor) da diferença entre sexos para medidas do comprimento total (CT), da cloaca ao final (CC) e a razão do comprimento total pelo cloacal (CT/CC) das caudas de tartarugas-verdes coletadas no litoral paranaense.

<b>Parâmetros mensurados</b>	<b>n</b>	<b>Média Fêmea</b>	<b>n</b>	<b>Média Macho</b>	<b>t (p)</b>
Comprimento total (CT)	49	5,60 ( $\pm$ 2,16)	57	5,59 ( $\pm$ 2,14)	0,26 (0,792)
Comprimento cloaca-final (CC)	45	2,40 ( $\pm$ 0,69)	42	2,49 ( $\pm$ 0,69)	0,52 (0,600)
Razão entre CT e CC	45	2,85 ( $\pm$ 0,91)	42	2,83 ( $\pm$ 0,92)	0,22 (0,821)

As diferenças entre machos e fêmeas em cada grupo de medidas cloacais foi testada para 3 classes de comprimento de tamanho, ocorrendo diferenças significativas para a razão entre comprimento total e cloacal para tartarugas da classe de tamanho de 30,5 a 35 cm (TABELA 7). A análise discriminante permitiu o reconhecimento dos grupos (Wilks lambda= 0,32;  $F_{\text{aprox.}} = 41,87$ ;  $p < 0,0001$ ).

TABELA 7: Testes de significância (valores de t e respectivo p valor) da diferença entre sexos em três classes de tamanho distintas para médias das medidas do comprimento total (CT), da cloaca ao final (CC) e a razão do comprimento total pelo cloacal (CT/CC) das caudas de tartarugas-verdes coletadas no litoral paranaense (\* = diferença significativa).

<b>Parâmetros mensurados</b>	<b>n</b>	<b>Média para Fêmeas</b>	<b>n</b>	<b>Média para Machos</b>	<b>t (p)</b>
<i>Comprimento Total (CT)</i>					
30,5 - 35	12	4,47 ( $\pm 1,75$ )	15	5,16 ( $\pm 1,30$ )	1,17 (0,251)
35,5 - 40	23	5,45 ( $\pm 1,81$ )	28	5,03 ( $\pm 2,30$ )	0,78 (0,436)
40,5 - 45	14	6,65 ( $\pm 2,08$ )	9	5,91 ( $\pm 1,94$ )	0,86 (0,399)
<i>Comprimento Cloacal (CC)</i>					
30,5 - 35	8	1,81 ( $\pm 0,45$ )	14	2,03 ( $\pm 0,60$ )	0,90 (0,396)
35,5 - 40	19	2,53 ( $\pm 0,63$ )	17	2,26 ( $\pm 0,50$ )	1,41 (0,165)
40,5 - 45	11	2,72 ( $\pm 0,87$ )	7	2,71 ( $\pm 0,26$ )	0,03 (0,970)
<i>Razão entre CT e CC</i>					
30,5 - 35	8	0,75 ( $\pm 0,22$ )	14	2,88 ( $\pm 0,90$ )	6,03 (<0,005) *
35,5 - 40	19	2,65 ( $\pm 1,17$ )	17	3,06 ( $\pm 1,09$ )	1,10 (0,277)
40,5 - 45	11	2,98 ( $\pm 0,72$ )	7	2,51 ( $\pm 0,25$ )	1,63 (0,120)

Com as medidas ósseas foi calculada a média por sexo e realizado teste para verificar diferença entre machos e fêmeas com relação ao comprimento, largura e a razão entre o comprimento e a largura das três primeiras vértebras caudais (TABELA 8) não sendo encontrada diferença significativa entre estes parâmetros mensurados.

TABELA 8: Testes de significância (valores de t e respectivo p valor) da diferença entre sexos para medidas do comprimento, largura e razão do comprimento pela largura das três primeiras vértebras das caudas de tartarugas-verdes coletadas no litoral paranaense.

<b>Parâmetros mensurados</b>	<b>Média para Fêmeas (n=31)</b>	<b>Média para Machos (n=25)</b>	<b>t (p)</b>
<i>Primeira caudal (C1)</i>			
Comprimento (C)	6,88(± 1,17)	6,88 (± 1,16)	1,52 (0,132)
Largura (L)	22,51(± 3,20)	22,44 (± 3,11)	0,88 (0,381)
Razão C/L	0,29 (± 0,05)	0,30 (± 0,05)	0,78 (0,438)
<i>Segunda caudal (C2)</i>			
Comprimento (C)	4,97 (± 0,64)	4,95 (± 0,60)	1,52 (0,132)
Largura (L)	18,20 (± 2,40)	18,15 (± 2,25)	0,88 (0,381)
Razão C/L	0,27 (± 0,01)	0,27 (± 0,01)	0,78 (0,438)
<i>Terceira caudal (C3)</i>			
Comprimento (C)	3,92 (± 0,74)	3,89 (± 0,71)	0,95 (0,343)
Largura (L)	17,29 (± 2,74)	17,28 (± 2,67)	1,56 (0,122)
Razão C/L	0,23 (± 0,05)	0,22 (± 0,05)	0,45 (0,649)

As diferenças entre machos e fêmeas em cada grupo de medidas da primeira (TABELA 9), segunda (TABELA 10) e terceira (TABELA 11) vértebras caudais foram testadas para 2 classes de comprimento de tamanho sendo desconsiderada a classe de 30,5 a 35 cm por ser pouco representativa. Foi encontrada diferença significativa para a razão entre comprimento e largura da primeira vértebra caudal para tartarugas da classe de tamanho de 40,5 a 45 cm (TABELA 9). A análise discriminante permitiu o reconhecimento dos grupos (Wilks lambda= 0,056;  $F_{\text{aprox.}} = 1329,7$ ;  $p < 0,0000$ ).

TABELA 9: Testes de significância (valores de t e respectivo p valor) da diferença entre sexos para medidas do comprimento, largura e razão do comprimento pela largura em duas classes de tamanho da primeira vértebra caudal de tartarugas-verdes coletadas no litoral paranaense (\* = diferença significativa).

<b>Parâmetros mensurados</b>	<b>n</b>	<b>Média para Fêmeas</b>	<b>n</b>	<b>Média para Machos</b>	<b>t (p)</b>
<i>Comprimento ( C1 )</i>					
35,5 - 40	15	6,91 (± 0,66)	11	7,17 (± 1,10)	0,73 (0,466)
40,5 - 45	9	6,11 (± 0,60)	2	7,15 (± 1,92)	1,54 (0,156)
<i>Largura ( L1 )</i>					
35,5 - 40	15	23,52 (± 2,52)	11	24,55 (± 3,41)	0,88 (0,386)
40,5 - 45	9	19,53 (± 2,52)	2	23,08 (± 3,70)	2,03 (0,072)
<i>Razão C1/L1</i>					
35,5 - 40	15	0,29 (± 0,02)	11	0,29 (± 0,01)	0,38 (0,704)
40,5 - 45	9	0,31 (± 0,02)	2	1,06 (± 0,00)	36,46 (< 0,000) *

TABELA 10: Testes de significância (valores de t e respectivo p valor) da diferença entre sexos para medidas do comprimento, largura e razão do comprimento pela largura em duas classes de tamanho da segunda vértebra caudal de tartarugas-verdes coletadas no litoral paranaense.

<b>Parâmetros mensurados</b>	<b>n</b>	<b>Média para Fêmeas</b>	<b>n</b>	<b>Média para Machos</b>	<b>t (p)</b>
<i>Comprimento ( C2 )</i>					
35,5 - 40	15	5,02 (± 0,59)	11	5,21 (± 0,69)	0,71 (0,480)
40,5 - 45	9	4,76 (± 0,58)	2	4,99 (± 0,93)	0,45 (0,661)
<i>Largura ( L2 )</i>					
35,5 - 40	15	18,48 (± 2,06)	11	19,45 (± 3,15)	0,94 (0,354)
40,5 - 45	9	16,80 (± 1,55)	2	18,21 (± 4,00)	0,90 (0,388)
<i>Razão C2/L2</i>					
35,5 - 40	15	0,27 (± 0,01)	11	0,26 (± 0,01)	0,46 (0,647)
40,5 - 45	9	0,28 (± 0,02)	2	0,27 (± 0,00)	0,50 (0,628)



TABELA 11: Testes de significância (valores de t e respectivo p valor) da diferença entre sexos para medidas do comprimento, largura e razão do comprimento pela largura em duas classes de tamanho da terceira vértebra caudal de tartarugas-verdes coletadas no litoral paranaense.

<b>Parâmetros mensurados</b>	<b>n</b>	<b>Média para Fêmeas</b>	<b>n</b>	<b>Média para Machos</b>	<b>t (p)</b>
<i>Comprimento ( C3 )</i>					
35,5 - 40	15	4,05 (± 0,78)	11	4,05 (± 0,93)	0,01 (0,997)
40,5 - 45	9	3,36 (± 0,43)	2	4,64 (± 1,86)	2,19 (0,055)
<i>Largura ( L3 )</i>					
35,5 - 40	15	17,00 (± 2,75)	11	19,26 (± 3,38)	1,87 (0,073)
40,5 - 45	9	15,45 (± 1,40)	2	17,22 (± 0,12)	1,17 (0,120)
<i>Razão C3/L3</i>					
35,5 - 40	15	0,24 (± 0,07)	11	0,21 (± 0,02)	1,48 (0,151)
40,5 - 45	9	0,21 (± 0,03)	2	0,26 (± 0,11)	1,25 (0,239)

#### 4. DISCUSSÃO

O conhecimento da biologia reprodutiva de tartarugas marinhas estão restritos a poucas localidades, geralmente realizados em áreas de reprodução com fêmeas adultas e filhotes recém eclodidos (LUTZ *et al.*, 2003). A dificuldade em se estudar populações juvenis vem da necessidade de coletas em longo prazo com custos elevados refletindo na falta de dados nesta fase do desenvolvimento. Aliada a esta dificuldade, o sexo de tartarugas marinhas imaturas não pode ser determinado externamente (GODLEY *et al.*, 2002) e a ausência de características que auxiliem a separação visual de machos e fêmeas em tartarugas marinhas juvenis é uma grande dificuldade encontrada para o desenvolvimento de estudos de identificação e proporção sexual (WIBBELS, 2003). Esta dificuldade é reflexo da escassa literatura encontrada a respeito do tema (MENDONÇA, 1980, BALAZS E CHALOUPKA, 2004). Neste contexto, estudos envolvendo a morfometria convencional como uma ferramenta na identificação de machos e fêmeas podem facilitar a realização de estudos na área.

Alguns estudos mostram a diferença na média de comprimento de carapaça entre machos e fêmeas na fase juvenil. GODLEY *et al.* (2002) detectaram um dimorfismo com relação ao comprimento curvilíneo médio na população de *Chelonia mydas* na Ilha de Ascensão. Em sua amostra a média da medida de carapaça de

machos era menor que a média de medida de carapaça das fêmeas em uma amostra representada, em sua maioria, por indivíduos sub-adultos. Por outro lado, BOLTEN *et al.* (1992) não encontraram diferença significativa de crescimento entre machos e fêmeas sub-adultos e adultos indicando que talvez não exista um dimorfismo real. A diferença estatística encontrada no trabalho de GODLEY *et al.* (2002) pode ser reflexo de uma amostra composta por indivíduos com idades diferentes e que, conseqüentemente, terão tamanhos distintos independente do sexo. Quanto ao dimorfismo do comprimento médio de carapaça, os dados obtidos no litoral paranaense estão de acordo por aqueles apresentados por BOLTEN e colaboradores, (1992), contudo, quando consideramos os dados separados por classes de tamanho diferenças significativas foram obtidas para animais com comprimento de carapaça entre 40,5 a 45 cm. Este dado sugere o mesmo encontrado nos estudos de crescimento diferencial entre machos e fêmeas (CHALOUPKA e LIMPUS, 1997, CHALOUPKA *et al.*, 2004), uma vez que a partir de certa classe de tamanho é observada diferença.

O tamanho menor dos machos comparado às fêmeas pode estar relacionado evolutivamente a diferentes fatores. O principal seria que a seleção de machos com menor estrutura remete à maior mobilidade e eficiência energética destes indivíduos em relação aos de maior porte o que aumenta a possibilidade de encontrar e inseminar um maior número de fêmeas. Vale ressaltar que neste grupo os combates que favoreceriam machos maiores são pouco freqüentes, sendo mais relevante a escolha da fêmea nos processos de corte (BERRY e SHINE, 1980; FRICK *et al.*, 2000). Alguns trabalhos sugerem que fêmeas mais desenvolvidas potencialmente produzem maior quantidade de ovos, tendem a se deslocar com maior rapidez e superar condições ambientais mais severas (GODLEY *et al.*, 2002; HIRTH, 1997, CARR *et al.*, 1974). Desta forma, a seleção sexual ocorreria em termos de tamanho (comprimento e largura curvilíneos de carapaça) e estaria ocorrendo em ambos os sexos. Na fase adulta, fêmeas maiores do que machos certamente apresentam maior facilidade no deslocamento e reboque do macho durante a cópula.

Não foram encontradas diferenças significativas nas razões entre comprimento e largura de carapaça que foram calculadas com a finalidade de testar o dimorfismo proposto por MILLER (1989), no qual os machos apresentam carapaça mais alongada que fêmeas. Mesmo quando fragmentada por classes de tamanho, as razões entre comprimento e largura não apresentam diferença. Segundo dados obtidos neste

estudo, as variações no comprimento, apresentam diferença entre os sexos quando considerada a classe de tamanho de 40,5 a 45 centímetros. Este é um indicativo de que a partir desta classe a diferença pode ser percebida, porém este estudo está limitado a esta classe, não podendo inferir a respeito de indivíduos maiores.

Com relação às estruturas relacionadas às características sexuais secundárias na fase adulta, diferentes medidas nas estruturas de unhas e caudas foram testadas na busca por diferenças entre machos e fêmeas. Com relação às unhas, só foi encontrada diferença significativa nas larguras tomadas na porção externa (exposta) das unhas, mesmo sendo estruturas sujeitas a variações do meio. É de se esperar que as mesmas variações ocorram no comprimento da unha, provavelmente não sendo percebidas pela fragilidade no extremo desta estrutura que se rompe facilmente (observação pessoal). Quando fragmentadas em classes de tamanho, a diferença nas larguras das unhas foi detectada nos intervalos de 30,5 a 35 e 35,5 a 40 cm. Quando realizada análise discriminante, na classe de tamanho de 30,5 a 35 cm foi possível separar machos de fêmeas, validando este parâmetro como uma ferramenta na identificação do sexo. O resultado surpreende, pois, de uma forma geral, estudos anatômicos envolvendo morfometria em tartarugas buscam variações em estruturas ósseas, em geral, por serem consideradas mais conservativas. (CLAUDE, *et al.*, 2004 e DEPECKER, 2006) e neste estudo não foi possível detectar diferenças nas estruturas ósseas relacionadas à nadadeira de tartarugas-verdes juvenis.

Com relação às caudas, ainda existe uma limitação maior. Nenhum estudo apresenta o número padrão de vértebras caudais sendo quantificado o mínimo de 12. Anatomistas afirmam que a variação é grande, mas estudos normalmente levam em consideração somente os machos, por apresentarem vértebras mais desenvolvidas (WYNEKEN, 2003). Associado a este fato, estudos envolvendo análises anatômicas não são comuns atualmente dificultando a relação entre estas estruturas com variáveis como o sexo.

Quando analisados os comprimentos externos de caudas (do plastrão ao final e da cloaca ao final) e a razão entre estas medidas, não houve diferença entre machos e fêmeas. Ao separarmos em classes de tamanho, a diferença passa a ser percebida na razão entre o comprimento total e cloacal na classe de tamanho de 30,5 a 35 centímetros de comprimento de carapaça. Novamente a análise discriminante separou machos de fêmeas potencializando a utilização deste parâmetro na identificação dos sexos nesta classe de tamanho. Este dado pode indicar que talvez o dimorfismo exista

em outras classes de comprimento sendo necessária a utilização de uma escala mais fina na tomada de dados, uma vez que as medidas foram realizadas em centímetros.

Na análise de comprimento, largura e relação entre comprimento e largura das três primeiras vértebras caudais (sacrais) não foi encontrada diferença entre machos e fêmeas. Quando fragmentadas em classes de tamanho, a diferença é significativa na razão entre o comprimento e largura da primeira vértebra caudal no intervalo de 40,5 a 45 cm. É possível separar machos e fêmeas em análise discriminante mostrando este parâmetro como uma boa ferramenta na separação dos sexos. Talvez, o dimorfismo possa estar associado ao número de vértebras (uma vez que é variável) e não ao tamanho das estruturas. O número de vértebras caudais não foi testado com relação a diferenças entre machos e fêmeas neste estudo. Por serem estruturas diminutas, em especial as vértebras mais distais, ao sofrerem o processo de maceração (método utilizado para separar as estruturas ósseas) são facilmente perdidas, deixando de ser um critério bom para análises de material osteológico de coleções científicas.

Os resultados apresentados mostram a dificuldade no estudo de biologia reprodutiva de tartarugas marinhas juvenis levando em consideração somente características externas dos animais e apresentou uma tentativa de separação de machos e fêmeas através de estruturas que serão secundariamente diferenciadas na fase adulta. A separação entre machos e fêmeas foi considerada efetiva levando-se em consideração as larguras da estrutura córnea exposta nas unhas das nadadeiras anteriores, na relação entre os comprimentos totais e cloacais das caudas de tartarugas-verdes e na relação entre comprimento e largura da primeira vértebra caudal. A variação foi percebida somente para as classes de tamanho entre 30,5 e 40 cm no caso das unhas, entre 30,5 e 35 cm no caso da razão de comprimento caudal e entre 40, 5 e 45 cm no caso da razão entre comprimento e largura vertebrais. Através da análise discriminante foi possível verificar a efetividade dos parâmetros na identificação de machos e fêmeas o que pode potencializar estudos de dimorfismo sexual baseados no estudo de caracteres morfológicos de juvenis, particularmente a utilização de coleções científicas. Neste contexto, coleções científicas devem ser elaboradas primando pela manutenção do maior número de estruturas possíveis de tartarugas marinhas em diferentes fases de desenvolvimento, não se restringindo ao material ósseo, tendo em vista os resultados obtidos neste estudo.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGULO R. J., 1993. **Variações na configuração da linha de costa no Paraná nas últimas quatro décadas**. Boletim Paranaense de Geociências. 41: 52-72.
- BALAZS, G. H. e CHALOUPKA, M., 2004. **Spatial and temporal variability in somatic growth of green sea turtles (*Chelonia mydas*) resident in the Hawaiian Archipelago**. Marine Biology International Journal on Life in Oceans and Coastal Waters.
- BERRY, J. F. e SHINE, R., 1980. **Sexual size dimorphism and sexual selection in turtles (Ordem Testudines)**. Oecologia, 44: 185-191.
- BOLTEN, A. B.; BJORN DAL, K. A.; OWENS, D. W. e GRUMBLES, S. 1992. **Sex ratio and specific growth rates of immature green turtles, *Chelonia mydas*, in the Southern Bahamas**. Copeia, 4: 1098-1103.
- CARR, A.; ROSS, P. e CARR, S. 1974. **Inter-nesting behavior of the green turtle *Chelonia mydas* at a mid-ocean breeding group**. Copeia, 1974: 703-706.
- SCHLUTER, D., 2000. **The ecology of adaptive radiation**. Oxford: Oxford University Press.
- CHALOUPKA, M. Y. e LIMPUS, C. J., 1997. **Robust statistical modelling of hawksbill sea turtle growth rates (southern Great Barrier Reef)**. Marine Ecology Progress Series, 146: 1–8.
- CHALOUPKA, M. Y.; LIMPUS, C. J. e MILLER, J. D., 2004. **Green turtle somatic growth dynamics in a spatially disjunct Great Barrier Reef metapopulation**. Coral Reefs 23:
- CLAUDE, J.; PARADIS, E.; TONG, H. e AUFRAY, J. C., 2003. **Ecological correlates and evolutionary divergence in the skull of turtles: a geometric morphometric assessment**. Systematic Biology 53 (6): 937 – 952, 2004
- COLLAZO J. A.; BOULON R. J.; TALLEVAST T. L. 1992. **Abundance and Growth Patterns of *Chelonia mydas* in Culebra, Puerto Rico**. Journal of Herpetology. n°. 26, v. 3, pag. 293-300.
- DAY JR., J. W.; HALL, C. A. S.; KEMP, W. M.; YÁÑEZ- ARANCIBIA, A. **Estuarine Ecology**. New York: John Wiley, 1989. 558p.

DEPECKER, M.; BERGE, C.; PENIN, X. AND RENOUS, S., 2006. **Geometric morphometrics of the shoulder girdle in extant turtles (Chelonii)**. Journal of Anatomy, 208: 35-45.

FRAZER, N. B. e EHRHART, L. M., 1985. **Preliminary growth models for green turtle, *Chelonia mydas*, and loggerhead, *Caretta Caretta*, turtles in the wild**, Copeia, 1: 73-79.

FRICK, M. G.; SLAY C. K.; QUINN C. A.; WINDHAM-REID A.; RYDER C. M. AND MORSE L. J., 2000. **Aerial observations of courtship behavior in loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) from southeastern Georgia and north-easterns Flórida** . Journal of Herpetology, 34: 153-158.

GODLEY, B. J.; BRODERICK, A. C.; FRAUENSTEIN, R.; GLEN, F.; HAYS, G. C. 2002. **Reproductive seasonality and sexual dimorphism in green turtles**. Marine Ecology Progress Series, vol. 226, pág. 125 -133.

HENDRICKSON, J. R. 1958. **The green turtle *Chelonia mydas* in Malaya and Sarawak**. Proceedings of Zoological Society London, 130: 455-535

HIRTH, H. F., 1997. **Synopsis of the biological data on the green turtle *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1958)**. Biological Report, 97:1; US Fish and Wildlife Service, US Department of the Interior, Washington, DC.

IPARDES, Fundação Edison Vieira. **Zoneamento do Litoral Paranaense**. Curitiba, 1989.

LANA. P. C.; MARONE, E.; LOPES, R. M.; MACHADO, E. C. 2001. The Subtropical Estuarine Complex of Paranaguá Bay, Brazil. P. 131-145. In: SEELIGER, U. & KJERFVE, B. (Eds). **Coastal Marine Ecosystems of Latin América**. Ecological Studies, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

LANDE, R. e ARNOLD, S. J. 1983. **The measurement of selection on correlated characters**. Evolution 37: 1210-1226.

LIMA, R. E. & NEGRELLE, R. R. B (organizadores). 1998. **Meio ambiente e desenvolvimento no Litoral do Paraná: diagnóstico**. Curitiba: Editora UFPR. 266 p.

LIMPUS, C. J. & WALTER, D. G., 1980. **The growth of immature green turtles (*Chelonia mydas*) under natural conditions.** Herpetologica, 36 (2): 162-165.

LUTZ, P. L.; MUSICK, J. A.; WYNEKEN, J. **The biology of sea turtles**, CRC Press, vol. 2, Washington, 2003, 257 p.

MENDONÇA, M. T., 1981. **Comparative growth rates of wild immature green turtle *Chelonia mydas* and *Caretta Caretta* in Florida.** J. of Herp., vol. 15, nº 4, pag. 444 – 447.

MERCHANT-LARIOS, H. Determining hatchling sex. In: **Research and management techniques for de conservation of sea turtles.** Eckert, K. L. *et al.* Eds. IUCN/SSC Marine turtle specialist group publication. nº 4, 1999, 130-135.

MILLER, J. D., 1989. **Marine turtles:** Volume 1: an assessment of the conservation status of marine turtles in the kingdom of Saudi Arabia. MEPA Coastal and Marine Management Series, report 9. Ministry of Defence and Aviation, Kingdom of Saudi Arabia.

MONTEIRO, L. R. & REIS, S. F. 1999. **Princípios de morfometria geométrica.** Editora Holos, Ribeirão Preto, SP, 198 pag.

MROSOVSKY, N. e BENABIB, M. 1990. **An assessment of two methods of sexing hatchling sea turtles.** Copéia 1990, 589-591.

MROSOVSKY, N e GODFREY, M. H. 1995. **Manipulating sex ratios:** turtle speed ahead! Chelonian Conservation Biology. 1: 238-240.

MYERS, E. M.; JANZEN, F. J.; ADAMS, D. C. e TUCKER, J. K. 2006. **Quantitative genetics of plastron shape in slider turtles (*Trachemys scripta*).** Evolution, 60 (3): 563-572.

NETTO, S.A. e LANA, P.C., 1997. **Influence of *Spartina alterniflora* on superficial sediment characteristics of tidal flats in Paranaguá bay (South-eastern Brazil).** Estuarine, Coastal and Shelf Science, 44: 641-648.

POUGH, F. HARVEY. **A vida dos Vertebrados.** Editora. Atheneu, São Paulo – SP, 1993.

SCHLUTER, D. 1996. **Adaptive radiation along genetic lines of least resistance.** Evolution 50: 1766-1774.

VALENZUELA, N., 2001. **The effects of constant, shift and naturally-fluctuating temperature on sex-determination in *Podocnemis expansa* turtles.** Ecology 82: 3010–3024.

WIBBELS, T.; OWENS, D. W. e ROSTAL, D. 1991. **Soft Plastra of adult male sea turtle:** an apparent secondary sexual characteristic. Herpetological review 22: 47-49.

WIBBELS, T., 2003. Critical approaches to sex determination in sea turtles. In **Biology of Sea Turtles Volume II**, 103-134. Lutz, P. L., Musick, J. A. and Wyneken, J. (Eds). Boca Raton: CRC Press.

WYNEKEN, J. 2003. **The anatomy of sea turtle.** NOAA Memorandum NMFS-SEFSC, n. 470. Miami, Flórida. 180 p.

WINEKEN, J.; EPPERLY, S. P.; CROWDER, L. B.; VAUGHAN, J. & ESPER, K. B. 2007. **Determining sex in posthatchling loggerhead sea turtles using multiple gonadal and accessory duct characteristics.** Herpetologica, n° 63, v. 1, pág. 19 – 30.

YNTEMA, C. L. e MROSOVSKY, N., 1980. Temperature dependence of sexual differentiation in sea turtles: implications for conservation practices. Biological Conservation 18: 271-280.

ZANI, P. A., 2000. **The comparative evolution of lizard clow and toe morphology and clinging performance.** Journal of Evolution Biology. 13: 316-325.

ZUG, G. R. & GLOR, R. E., 1998. **Estimates of age and growth in a population of green sea turtles (*Chelonia mydas*) from the Indian River lagoon system, Florida: a skeletochronological analysis.** Can. J. of Zool., vol. 76, pag. 1497 – 1506.